

Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. O. P. Hornstein

**Histoautoradiographische in-vitro Untersuchungen
an klinisch unveränderter Epidermis von
Patienten mit Psoriasis zur Frage tageszeitlicher
Schwankungen des ^3H -Indexes**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Robert Hock
aus Nürnberg

1984



Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. O. P. Hornstein

Histoautoradiographische in-vitro Untersuchungen an
klinisch unveränderter Epidermis von Patienten mit
Psoriasis zur Frage tageszeitlicher Schwankungen des
³H-Indexes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Robert H o c k
aus
Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf
Referent: Prof. Dr. H. Schell
Korreferent: Prof. Dr. O.P. Hornstein
Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.1984

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

=====

	Seite
A. Einleitung	1
I. Epidermale Proliferationskinetik klinisch gesunder Epidermis bei Psoriasis	1
II. Was ist über tageszeitliche Schwankungen der epider- malen Proliferation bei Psoriasis und der normalen Haut bekannt	11
B. Material und Methode	18
I. Allgemeine Zellkinetik	18
II. Prinzip und Anwendung der Histoautoradiographie bei zellkinetischen Untersuchungen	22
III. Bedeutung des ^3H -Indexes	25
IV. Prinzip und Anwendung des Radioimmunoassays (RIA)	26
V. Versuchspersonen und Versuchsaufbau	28
VI. Technik der in-vitro Zellmarkierung	30
VII. Auswertung der Histoautoradiogramme und untersuchte zellkinetische Parameter	32
VIII. Methodik bei der Auswertung der Einzelergebnisse	33
C. Ergebnisse	34
I. Epidermaler ^3H -Index	34
II. Graphische Darstellung der Ergebnisse	35
III. Zusammenstellung der Ergebnisse	56
D. Diskussion	60
E. Zusammenfassung	66
F. Literaturverzeichnis	69
G. Anhang mit Tabellen	77
H. Danksagung	88
I. Curriculum vitae	89



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546217_0043

A. Einleitung

I. Epidermale Proliferationskinetik bei Psoriasis

Zunächst soll eine Übersicht über bisher vorliegende Ergebnisse gegeben werden. Sehr ausführlich haben sich hierzu WEINSTEIN et al (59-70) geäußert. Danach lassen sich im wesentlichen folgende Unterschiede zwischen psoriatischer und normaler Epidermis feststellen:

1. Proliferative Zellpopulation.

Die Anzahl der Zellen, die an der Proliferation teilnehmen, ist bei Psoriasis um das 9-fache erhöht, und zwar in psoriatischer Plaque (64).

2. Cell transit time

Als cell transit time wird die Durchwanderungszeit epidermaler Zellen im Stratum Malphigii bezeichnet (57). Die cell transit time ist bei der psoriatischen Epidermis (Plaque) erhöht, und zwar um den Faktor 7. Sie beträgt nach WEINSTEIN (64) bei der Epidermis von befallener psoriatischer Plaque 2 Tage, gegenüber 13 bis 14 Tagen bei normaler Haut (57, 64).

3. Dauer der Mitosephase (M-Phase)

Die M-Phase ist die Phase im Zellzyklus, in der die neue Zelle aus der Mutterzelle entsteht. Die M-Phase soll nach den bisher vorliegenden Untersuchungen in der psoriatischen Epidermis (Plaque) etwas schneller ablaufen, als in der normalen Epidermis gesunder Probanden. Da zur Bestimmung der M-Phasendauer noch weitere zellkinetische Daten erforderlich sind, ergeben sich relativ große Abweichungen zwischen den einzelnen Autoren.

Dauer der M-Phase in der Psoriasispsapel	Dauer der M-Phase in normaler Haut
16 Minuten (61) 30 Minuten (25) 4 Stunden (18)	1 Stunde (61) 1,5 Stunden (18)

4. Turn-over-time (26)

Als turn-over-time wird die Zeit bezeichnet, die die Epidermis für ihre einmalige Regeneration benötigt (26). Die Turnover-Zeit gibt die Mitosezahl, dividiert durch die Mitosedauer an (57):

$$\text{Turnover-Zeit} = \frac{\text{Mitosezahl}}{\text{Mitosedauer}}$$

Die Turnover-Zeit ist bei befallener psoriatischer Epidermis (Plaque) gegenüber der normalen Haut ebenfalls beschleunigt.

Turnover-Zeit bei befallener psoriatischer Epidermis (Plaque)	Turnover-Zeit bei normaler Haut
7 Tage (25, 26), einschließlich 2 Tage Turnover-Zeit für die Keratin-Schicht 2 Tage (ohne die Zeit für die Keratin-Schicht) (59)	45 Tage (3)

5. ^3H -Index und Mitoseindex

Zur Charakterisierung der proliferativen Aktivität eines Gewebes wird meist der ^3H -Thymin-Markierungsindex (^3H -Index) angegeben. Der ^3H -Index gibt nach Markierung mit ^3H -Thymin das im Histoautoradiogramm ermittelte Verhältnis von markierten Zellkernen zur Gesamtkernzahl einer Zellpopulation an.

Der Mitoseindex sagt aus, wieviel Zellteilungen auf 1000 ausgezählten Zellen zu beobachten sind (57). Dieser liegt in der normalen Epidermis zwischen 0,1 und 1,6 (19, 57).

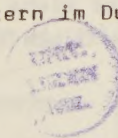
Bei nichtbefallener Haut von Psoriasispatienten beträgt der durchschnittliche Mitoseindex nach ROWE ca. 2,05 % (46).

In psoriatischer Epidermis (Plaque) schwankt der Mitoseindex nach Untersuchungen von MILSTEIN et al. (38) zwischen 0,3 und 9,09 %.

Zur Bedeutung des ^3H -Indexes wird auf die Ausführungen unter Abschn. B. Material und Methode, Ziff. III, verwiesen.

Nach WEINSTEIN (64) befinden sich bei befallener psoriatischer Epidermis 6 mal mehr Zellen in der S-Phase (DNS-Synthese) als in normaler Haut gesunder Patienten (der ^3H -Index beträgt demnach bei Psoriasis $22,7\% \pm 2,4\%$, bei normaler Haut von gesunden Probanden beträgt der ^3H -Index $3,5\%$, wobei zu beachten ist, daß WEINSTEIN in seinen Untersuchungen einen Korrekturfaktor von 1,4 anwendet).

Nach GOODWIN et al. (27) beträgt der ^3H -Index für nichtbefallene Haut von Psoriatikern im Durchschnitt $4,9\%$.



Nach PULLMANN (42) beträgt der ^3H -Index für gesunde Haut $2,8 \% \pm 1,0 \%$, für vollentwickelte psoriatische Plaque $10,6 \% \pm 4,0 \%$ und für nicht befallene Haut von Psoriatikern $5,7 \% \pm 3,4 \%$.

Nach GALOSI et al. (21) beträgt der ^3H -Index für gesunde Haut $5,8 \% \pm 2,5 \%$, für psoriatische Plaque $11,0 \% \pm 3,5 \%$ und für nicht befallene Haut von Psoriatikern $8,1 \% \pm 3,9 \%$.

Insgesamt liegen nach diesen Untersuchungen die zellkinetischen Daten für die nicht befallene Haut von Psoriatikern zwischen den Daten, die für die Haut von gesunden Probanden und zwischen den Daten, die für vollentwickelte psoriatische Plaque ermittelt wurden (vgl. die entsprechenden Werte in den Tab. 1 bis 3).

6. Dauer der S-Phase (DNS-Synthesezeit)

Die S-Phasendauer soll nach WEINSTEIN 2-fach schneller ablaufen, als bei normaler Haut, nämlich 8,5 Stunden bei Psoriasis gegenüber 16 Stunden bei normaler Haut (64). Nach PULLMANN (41) ist die DNS-Synthesezeit bei Psoriasis verlängert (weitere Einzelheiten über Untersuchungen zur S-Phasendauer siehe bei den Übersichtsdarstellungen in den Tabellen 1 bis 3).

7. Dauer des gesamten Zellzyklus (T_c)

Die "cell cycle time" ist nach WEINSTEIN für Psoriasis 12 mal schneller als bei normaler Haut, nämlich 37,5 Stunden für Psoriasis und 457 Stunden bei normaler Haut (64). Wegen weiterer Einzelheiten über Untersuchungen zur Dauer des Zell-Zyklus (T_c) siehe die Übersichtsdarstellungen in den Tabellen 1 bis 3.

Tabelle 1: Daten für die gesunde Epidermis

³ H-Index	Dauer der S-Phase S (Stunden)	Dauer des Zellzyklus Tc(Stunden)	Literatur	Erläuterungen
5,6 _± 1,7	8	144	WEINSTEIN et al. (60)	keine detaillierten Angaben, keine Daten
5,2 _± 1,5	8	163	WEINSTEIN et al. (61)	3H-Index: Zählung nach Photos, Korrek- turfaktor von 1,4 Patienten mit Psoriasis und anderen Hauterscheinungen
5,2	16	308	WEINSTEIN et al. (62)	in-vivo-Untersuchung
3,5	16	457	WEINSTEIN et al.	in-vivo-Untersuchung
3,5	16	457	WEINSTEIN et al. (54-67, 69, 70)	in-vivo-Untersuchungen
3,8	7,6	206	ALLEGRA et al. (1)	in-vivo Doppelmarkierung 3H, 3H; 6 Patienten, Zählung unter Mikroskop Korrekturfaktor 1,4 bei 3H-Index und S
4,9 _± 1,1	-	-	EPSTEIN et al. (16)	in-vivo, einmalige 3H-Thymidin-Injek- tion, 21 Patienten, Zählung unter Mikroskop, 6000 Zellen/Patient
8,9	-	-	HELL et al.(31)	in-vitro-Inkubation 3H, 24 Std., 13 Patienten
2,3	-	-	KAIDBEY et al. (35)	in-vitro-Inkubation 3H, 1 Std.
8,0	-	-	SHAHRAD et al. (55)	in-vitro-Inkubation 3 H, 2,5 Std. 9 Patienten
9,5	-	-	SHAHRAD et al. (55)	in-vitro-Inkubation 3 H, 2,5 Std. 9 Patienten
2,4	6,6	282	PULLMANN et al. (41)	in-vitro-Inkubation, Doppelmarkierung 3H, 14C, 3 Patienten
4,5	7,6	170	HEENEN et al.(30)	in-vitro-Doppelmarkierung 3H, 3H; 3 Patienten
4,8	10	213	HEENEN et al.(28)	in-vitro-Doppelmarkierung 3H, 3H; 6 Patienten
5,8	10,3	184	HEENEN et al.(29)	in-vitro-Doppelmarkierung 3H, 3H; 3 Patienten
8,6	5,9	142-166	CHRISTOPHERS et al.(11)	in-vitro-Doppelmarkierung 3H, 3H

noch Tab. 1, Daten für die gesunde Epidermis

10,5 +2,2	11,5	59	CHOPRA et al. (10)	7 Tage in-vitro-Kultur
2,8+1,0	7,2+0,8	298 + 121	PULLMANN (42)	in-vitro-Inkubation 3H
6,0+0,8	-	-	GELFANT (24)	in-vivo-Untersuchung, 10 männl. Probanden, durchschnittl. Alter 27 Jahre
				9 Uhr Wert
6,4+0,7	-	-		15 Uhr Wert
6,0+0,7	-	-		9 Uhr Wert
6,3+0,6	-	-		21 Uhr Wert
5,8+2,5	9,0 +2,7	184+ 91	GALOSI et al. (21)	in-vitro-Inkubation für 2 Std. bei 37°C, 2,2 atm O ₂ , 7 Patienten, 1000 Basalzellen/Patient
2,93+0,49	6,19+0,3	-	SCHILL et al. (50)	3H-Index: in-vitro-Inkubation 3H-Thymidin bei 37° C, 4 atm. O ₂ , 6 Patienten, 2000 Basalzellen/Patient. Dauer der S-Phase: in-vitro- Inkubation 14C,3H-Thy- midinmarkierung in 6 h Abständen über 48 Stunden

Tabelle 2: Daten für die nichtbefallene Haut von
Psoriasis-Patienten

³ H-Index	Dauer der S-Phase S (Stunden)	Dauer des Zellzyklus Tc (Stunden)	Literatur	Erläuterungen
2,6	-	-	HELL et al. (31)	in-vitro-Inkubation 3H, 24 Std., 15 Patienten
4,6	-	-	KAIDBEY et al. (35)	in-vitro-Inkubation 3H, 1 Std. keine indiv. Patientendaten
4,9	11,4	-	GOODWIN et al. (27)	in-vivo-Untersuchung, 6 Patienten, Alter durchschn. 45 Jahre
5,7 $\pm$ 3,4	11,5 $\pm$ 2,3	263 $\pm$ 140	PULLMANN (42)	in-vitro-Inkubation
8,1 $\pm$ 3,9	10,0 $\pm$ 4,2	149 $\pm$ 111	GALOSI et al. (21)	in-vitro-Inkubation für 2 Std. bei 37°C, 2,2 atm O ₂ , 30 Patienten, 1000 Basalzellen/Patient
6,1 $\pm$ 0,3	-	-	GELFANT (23)	in-vivo-Inkubation, 12 männl. Patienten, durchschn. Alter 51 Jahre

Tabelle 3: Daten für die psoriatische Plaque

³ H-Index	Dauer der S-Phase S (Stunden)	Dauer des Zellzyklus Tc (Stunden)	Literatur	Erläuterungen
22,7 $\pm$ 2,4	8	37,5	WEINSTEIN et al. (60)	in-vivo, einmalige 3H-Thy- midin-Injektion
22,7 $\pm$ 2,4	8,5	37,5	WEINSTEIN et al. (61)	3H-Index: 7 Patienten, Zäh- lung nach Photos, 850 Zellen pro Patient, Korrekturfaktor von 1,4 S: 8 Patienten, durchschn. 113 Mitosen/Patient
11	9,8	91	GOODWIN et al. (25)	in-vivo, einmalige 3H-Thy- midin-Injektion, 8 Patienten, Zählung unter Mikroskop, 3H-Index: 3000 prolif. Zellen pro Patient, S: durchschn. 2211 Mitosen/ Patient
10	7,7	56	DUFFIL et al. (13)	3H-Index: in-vivo, einmalige 3H-Thymidin-Injektion, 8000 Zellen im str. germin. wurden unter Ölimm. gezählt
4,1	-	-	HELL et al. (31)	in-vitro-Inkubation 3H, 24 Std., 15 Patienten
11,7	-	-	SCHMID et al. (53)	in-vitro-Inkubation 3H, 1 Std.
27,5	-	-	SHAHRAH et al. (50)	in-vitro-Inkubation 3H, 2,5 Std., 13 Patienten, keine indiv. Patientendaten
13,6	14,4	114	PULLMANN et al. (41)	in-vitro-Inkubation, Doppel- markierung 3H, 14C, 5 Patien- ten
12	6,5	53,5	CHOPRA et al. 10	in-vitro-Kultur für 7 Tage
10,6 $\pm$ 0,4	13,6 $\pm$ 2,9	146 $\pm$ 59	PULLMANN (42)	in-vitro-Inkubation
21,2 $\pm$ 1,0	-	-	GELFANT (23)	in-vitro-Inkubation, 12 männ- liche Patienten, durchschn. Alter 51 Jahre
11,0 $\pm$ 3,5	10,5 $\pm$ 2,3	95 $\pm$ 34	GALOSI et al. (21)	in-vitro-Inkubation f. 2 Std. bei 37°C, 2,2 atm O ₂ , 30 Pa- tienten, 1000 Basalz./Patient

Tabelle 4: ^3H -Index (LI) - Vergleich der Untersuchungen
in vivo - in vitro

LI in vivo	LI in vitro	autoradiographische Expositionszeit in Tagen	Erläuterungen
1,62 2,5	0,97 1,37	3 7	HELL et al (32) Normale Epidermis, 6 Patienten, ^3H - Index in vivo, 40 min. Inkubations- zeit; in-vitro Inkubation 4 Stunden
2,2	2,3	14 - 56	LACHAPPELLE et al (37) normale Epidermis, individuelle Daten, 6 Patienten, ^3H -Index in vivo 1 Stunde Inkubation, in vitro Inkubation für 2 Stunden

Erläuterungen zu den Tabellen 1 bis 3:

Die in den Tabellen 1 bis 3 zusammengestellten Ergebnisse zeigen für den ^3H -Index, daß die proliferative Aktivität der psoriatischen Epidermis gegenüber der gesunden Haut offensichtlich erhöht ist, was die Untersuchungen von PULLMANN (42) bestätigt, wonach die zellkinetischen Daten für die nichtbefallene Haut bei Psoriatikern zwischen den Daten, die für die Haut von gesunden Probanden und zwischen den Daten, die für vollentwickelte psoriatische Plaque ermittelt wurden, liegen.

Erläuterungen zu Tabelle 4:

Die Tabelle 4 zeigt eine Gegenüberstellung der Ergebnisse für

den ^3H -Index (für normale Epidermis) der in-vivo und der in-vitro Methode. Danach zeigt sich, daß die mit der in-vivo Methode erhaltenen Ergebnisse den mittels der in-vitro Methode gewonnenen Ergebnissen nur bedingt vergleichbar sind.

II. Was ist über tageszeitliche Schwankungen der epidermalen Proliferation bei Psoriasis und der normalen Haut bekannt?

1. Mitosezählungen

Mit Hilfe von Mitosezählungen ist das Problem der tageszeitlichen Schwankungen schon früher angegangen worden. Damals stand als zellkinetischer Parameter (vgl. Tab. 5) nur der Mitoseindex, d. h. der prozentuale Anteil an Mitosen einer Zellpopulation, zur Verfügung, der aber ohne Kenntnis der Mitosedauer nur wenig Aussagen über die Wachstumsdynamik eines Gewebes zuläßt (49). So berichteten BRODERS (1939) (5) und COOPER (1939) (12) über entsprechende Schwankungen des Mitoseindex in den Präputien von Neugeborenen und fanden ein Maximum an Mitosezahlen gegen 21 Uhr bzw. 22 Uhr und ein Minimum gegen 10 Uhr (bei durchschnittlich 5000 gezählten Zellkernen zwischen 35 und 7 Mitosen).

An Erwachsenen untersuchten SCHEVING (1959) (52) über 22 Stunden und FISHER (1968) (17) über 23 Stunden die epidermale Mitoseaktivität. Sie fanden ein Maximum zwischen 24 Uhr und 3 Uhr, sowie ein Minimum zwischen 10 Uhr und 13 Uhr. Beide Autoren konnten neben dem Hauptmaximum noch ein weniger deutliches Nebenmaximum (14 Uhr und 7 Uhr) beobachten.

MILSTEIN et al. (46) untersuchten an 8 hautgesunden Patienten über 40 Jahren die Mitoseaktivität zu den Zeitpunkten 9 Uhr und 15 Uhr, jeweils 3 Entnahmen pro Zeitpunkt und Patient, und fanden eine statistisch signifikante Erhöhung des Mitoseindex um 15 Uhr. In einer weiteren Arbeit aus dem Jahre 1978 untersuchten ROWE et al. (47) die Mitoseaktivität

in normaler und psoriatischer Epidermis, ebenfalls zu den Zeitpunkten 9 Uhr und 15 Uhr. Danach besteht zwischen den Mitosezahlen für den Entnahmezeitpunkt 9 Uhr sowohl für normale Haut als auch für nichtbefallene Haut von Psoriatikern kein signifikanter Unterschied, wohl aber zwischen der Mitoserate von 9 Uhr und 15 Uhr, sowohl für die normale Haut als auch für die nichtbefallene psoriatische Haut. Die Mitoserate ist demnach um 15 Uhr höher als um 9 Uhr für die normale Haut und signifikant höher für die nichtbefallene Haut von Psoriatikern.

2. Histoautoradiographische Untersuchungen

Über histoautoradiographische Untersuchungen zu tageszeitlichen Schwankungen des epidermalen ^3H -Indexes, die gegenüber reinen Mitosezählungen etwa 8 - 10 mal genauer sind (44, 54), berichten 1968 erstmals KAHN et al. (34). Die Autoren bestimmten in einer in-vivo Studie bei 9 Erwachsenen (7 Männern und 2 Frauen) in 6-stündigen Abständen über 24 Stunden nach intracutaner Applikation von ^3H -Thymin den prozentualen Anteil DNS-synthetisierender basaler Zellkerne (basaler ^3H -Index) und fanden um 24 Uhr ein geringes, aber statistisch signifikantes Maximum. Dagegen konnten PULLMANN et al. (41) bei drei Erwachsenen Männern nach ^3H -Thymin-Markierung in-vitro weder tageszeitliche Variationen des ^3H -Indexes noch von Teilphasen des Zellzyklus finden (S-Phase).

In der Untersuchung von SCHELL et al. (50) über einen Zeitraum von 48 und 66 Stunden an 12 männlichen Probanden (Alter zwischen 20 und 27 Jahren) unter weitgehend standardisierten Versuchs- und Auswahlbedingungen (gleiche Lokalisation der Biopsieentnahmen, gleiche Altersklasse

der Probanden, ähnliche Lebensgewohnheiten, gleiche experimentelle Bedingungen der in-vitro Zellmarkierung und Auswertung) konnte ein circadianer Rhythmus des ^3H -Indexes mit einem Maximum um 6 Uhr und einem Minimum um 18 Uhr nachgewiesen werden.

GELFANT et al. bestimmten in einer in-vivo Untersuchung an 12 Probanden mit Psoriasis, durchschnittliches Alter 51 Jahre, den ^3H -Index und den Mitoseindex sowohl an der nichtbefallenen Haut als auch an der befallenen Haut dieser Patienten. Als Untersuchungszeitpunkte wählten die Autoren 9 Uhr, 15 Uhr, 21 Uhr und 3 Uhr. Als Ergebnis stellten sie fest, daß ein circadianer Rhythmus sowohl bei den Werten für den ^3H -Index als auch für den Mitoseindex nicht vorliege. Diese Feststellung wurde nur nach Auflistung aller ermittelten Werte getroffen (23).

In einer weiteren Untersuchung von GELFANT (24) an 10 hautgesunden männlichen Probanden, durchschnittliches Alter 27 Jahre, bestimmte er den ^3H -Index zu den Zeitpunkten 9 Uhr, 15 Uhr, 9 Uhr und 21. Auch in dieser in-vivo Untersuchung kommt der Autor zu dem Schluß, daß tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes nicht vorliegen.

Zu den Untersuchungen von GELFANT et al. (23) darf auf die Veröffentlichung (Letter to the editor) von RUBIN et al. (48) verwiesen werden, die mit den von GELFANT et al. gefundenen Werten sowohl für den Mitoseindex als auch für den ^3H -Index statistisch signifikante tageszeitliche Schwankungen bei nichtbefallener Haut von Psoriatikern nachgewiesen haben, mit niedrigeren Werten für die Zeiten 9 Uhr und 15 Uhr und höheren Werten für die Zeiten 21 Uhr und 3 Uhr.

In Tab. 5 sind in einer Übersichtsdarstellung alle bisher vorliegenden Untersuchungen zur Frage tageszeitlicher Schwankungen des Mitoseindex und des ^3H -Indexes zusammengestellt worden.

Tabelle 5:

Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen
des epidermalen Mitoseindex und des ^3H -Indexes

Autoren	Anzahl der Ver- suchs- personen	Alter	Lokalisation	Parameter	Entnahme- zeit Uhrzeit	Tageszeit	
						Maximum	Minimum
COOPER; SCHIFF (49)	13 ♂	Neuge- borene	Präputium	Mitose- zahl	Trans- versal- studie	21	10
COOPER (12)	57 ♂	Neuge- borene	Präputium	Mitose- zahl		22	5 - 10
BRODERS DUBLIN (5)	14 ♂	Neuge- borene	Präputium	Mitose- zahl		21	10
SCHEVING (52)	12 ♂	20 J.	Schulter	Mitose- zahl	22 Std.- zeitraum	0- 3	10 - 13
FISHER (17)	? ♂	Erwach- sene	Arm	Mitose- zahl	23 Std.- zeitraum	1-3, 7	13
ROWE DIXON (46)	8	> 40	Rücken	Mitose- zahl	9, 15	15	9
MILSTEIN CORNEL (39)	6 ♂ 4 ♀	30 - 60	Rumpf oder Oberarm aus psoriatischer Plaques	Mitose- zahl	8,12,16, 20,24,4	keine statistisch signifikanten Schwankungen	
ROWE DIXON FORSYTHE (47)	10 ♂	40 - 55	Rücken nichtbefallener Haut von Psoriatikern	Mitose- zahl	9, 15	15 signi- fikan- t höher	9
	18 ♀	40 - 55	Rücken normale Haut	Mitose- zahl	9, 15	15	9
	15 ♀	55	Rücken nichtbefallener Haut von Psoriatikern	Mitose- zahl	9, 15	15 signi- fikan- t höher	9
	15 ♂	55	Rücken normale Haut	Mitose- zahl	9, 15	15	9
KAHN; WEINSTEIN FROST (34)	7 ♂ 2 ♀	ab 61	Abdomen	^3H -Index in-vivo		0 Uhr	—

noch Tabelle 5: Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen des epidermalen Mitoseindex und des ^3H -Indexes

Autoren	Anzahl der Versuchspersonen	Alter	Lokalisation	Parameter	Entnahmezeit Uhrzeit	Tageszeit	
						Maximum	Minimum
PULLMANN; LENNARTZ; STEIGLEDER (41)	3 ♂	♂ 42	Abdomen	^3H -Index in-vitro		—	—
SHELL ROSENBERGER HORNSTEIN WAWRA (50)	5 ♂	24-37	Oberarm	basaler ^3H -Index in-vitro	24 Std.- zeitraum	kein einheitliches Maximum od. Minimum	
SHELL (49)	6 ♂	20-25	Oberarm	^3H -Index in-vitro	48 Std.- zeitraum	kein einheitliches Maximum od. Minimum	
SHELL SCHWARZ HORNSTEIN BERNLOCHNER WEGHORN (50)	12 ♂	20-27	Oberarminnen- seite	^3H -Index in-vitro	Langzeit- studie über 48 und 66 Std.	6	18
GELFANT (24)	10 ♂	♂ 27	Oberarm	^3H -Ind. in-vivo	9,15,9, 21	kein einheitliches Maximum od. Minimum	
	10 ♂	♂ 27	Oberarm	Mitose- zahl	9,15,9, 21	kein einheitliches Maximum od. Minimum	
GELFANT OZAWA CHALKER SMITH (23)	12 ♂	21-72 ♂ 51	Oberarm, Ellbogen, Knie, Rücken von Psoria- tikern a) nichtbe- fallene Haut u. b) psoria- tische Haut	^3H -Index in-vivo und Mitose- index	9,15, 21,3	sowohl bei nicht- befallener Haut als auch bei psoriatischer Haut kein circadianer Rhythmus nach- weisbar	

In der vorliegenden Arbeit soll zu folgenden Fragen
Stellung genommen werden:

1. Höhe des ^3H -Indexes klinisch gesunder Haut von Psoriasis-Patienten.
2. Bestehen tageszeitliche Schwankungen des epidermalen ^3H -Indexes?
3. Sofern dies bejaht werden kann, besteht eine Korrelation zu tageszeitlichen Schwankungen des Serumcortisolspiegels dieser Patienten?

B. Material und Methode

I. Allgemeine Zellkinetik

Die Neubildung der Epidermis erfolgt durch mitotische Zellteilung. Zur Zellteilung der gesunden menschlichen Epidermis sind die Zellen des stratum germinativum befähigt. Die menschliche Epidermis gehört zu den Wechselgeweben und befindet sich beim Gesunden im ständigen Gleichgewicht. Der an der Zelloberfläche konstant erfolgte Zellverlust wird durch ständige Zellneuproduktion im stratum germinativum ausgeglichen. Da unter physiologischen Bedingungen die Zellneubildung dem Zellverlust, d. h. der Abstoßung als Hornschuppe, entspricht, bleibt die Dicke der Epidermis konstant.

Während der Proliferation durchläuft die Epidermiszelle den Zellzyklus mit 4 gesetzmäßig aufeinanderfolgenden unterschiedlich langen Teilphasen:

1. Die G-1-Phase, d. ist die postmitotische, präsynthetische Ruhephase; sie bestimmt hauptsächlich die Generationszeit (T_c), d. h. die Zeitdauer zwischen zwei Zellteilungen, auch Interphase genannt. Aus der Interphase heraus entwickelt sich die Zelldifferenzierung (57).

2. Die DNS-Verdoppelungsphase (S-Phase).

In der S-Phase verdoppelt sich das gesamte Chromosomenmaterial. Zur Dauer der S-Phase siehe unter Abschnitt A. Einleitung, Ziff. I.7.

3. Die G-2-Phase, d. i. die postsynthetische, prämitotische Ruhephase. Ihre Dauer beträgt ca. 6 - 8 Stunden (68).

4. Die Mitose-Phase (M-Phase).

Die M-Phase ist die Phase, in der die neue Zelle aus der Mutterzelle entsteht. Die Dauer der M-Phase, die in der Literatur zum Teil mit sehr unterschiedlichen Werten angegeben wird, wurde bereits unter dem Abschnitt A. Einleitung, Ziff. I.3., näher beschrieben.

Neben dem Anteil der Epidermiszellen, die an der Proliferation direkt teilnehmen, sich also im Zellzyklus befinden (growth fraction) (44) und dem Anteil der Zellen, die ihre Teilungsfähigkeit verloren haben (non-growth-fraction), ist noch ein weiteres Subkompartiment nicht proliferierender Zellen vorhanden, die sich in einer Ruhephase (G-0-Phase) befinden. Aus dieser können sie bei Bedarf wieder einem Zellzyklus unter bestimmten Bedingungen (z.B. erhöhter Zellersatz) zugeführt werden.

Nach GELFANT (22) gibt es drei verschiedene Zellpopulationen in der Epidermis. Dieser unterscheidet Zellen, die den Zellzyklus durchlaufen, sog. "cycling cells", die etwa 40 % aller Zellen des stratum germinativum darstellen und sogenannte "non-cycling-cells", die etwa 60 % der Zellen des stratum germinativum ausmachen. Von den "non-cycling-cells" befinden sich etwa 90 % in der G_1 -Phase und sind dort blockiert und etwa 10 % in der G_2 -Phase und sind dort blockiert. Nun gibt es verschiedene spezifische Stimulatoren, die die "non-cycling-cells" dem Zellzyklus zuführen. Nach GELFANT (22) können dies sein:

Verletzung, Trauma, Temperatur, Ernährung, Hormone, Gewebssubstanzen, Enzyme, Arzneimittel, zyclische Nukleotide oder Vitamine.

Die Aufrechterhaltung der Homöostase zwischen Zellneubildung und Zellverlust hängt von lokalen und übergeordneten

Steuermechanismen ab. Nach dem Modell einer autonomen Wachstumsregulation wird die epidermale Proliferation unter Einbeziehung gewebsspezifischer, proliferationshemmender Faktoren, sog. Chalone, über einen innergeweblichen negativen Feedback-Mechanismus gesteuert.

Chalone bewirken sowohl eine Proliferationshemmung in der späten G_1 -Phase, etwa 9 bis 12 Stunden vor Beginn der DNS-Verdopplungsphase (G_1 -Inhibitor) als auch in der G_2 -Phase unmittelbar vor Mitosebeginn (G_2 -Inhibitor).

Verschiedene Hinweise belegen, daß die Aktivität der epidermalen Chalone durch Stresshormone (Adrenalin und Glucocorticoide) gesteigert wird. Die Wirkung von Chalonen bzw. Stresshormonen erfolgt intrazellulär über das epidermale cAMP und cGMP-System, wobei beide zyklischen Nukleotide als "second messenger" eine wichtige Rolle im intrazellulären Stoffwechsel spielen.

cAMP soll durch Hemmung oder Verlängerung der G_1 - und der G_2 -Phase die epidermale Proliferation bremsen und gleichzeitig die Zellausdifferenzierung fördern, während cGMP als intrazellulärer Stimulator der Proliferation angesehen wird (zit. nach 49).

Auch das Hormon Cortisol übt vermutlich einen wesentlichen Einfluß auf das Proliferationsverhalten der Epidermis aus (9, 19, 58). Aus der Nebennierenrinde wurden bisher über 50 verschiedene Hormone isoliert, darunter u. a. die Glucocorticoide, die den Kohlenhydrathaushalt beeinflussen.

Unter den Glucocorticoiden sind Cortisol und Corticosteron die wichtigsten physiologischen Vertreter, die im Blut zu 90 - 95 % an ein spezifisches steroidbindendes Glycoprotein gebunden sind (7).

Stoffwechselwirkungen der Glucocorticoide:

Unter dem Einfluß von Glucocorticoiden kommt es zur Neubildung von Kohlenhydraten (Förderung der Gluconeogenese) aus Proteinen (Aminosäuren) und in den peripheren Organen, insbesondere in der Muskulatur und im Knochengewebe, hemmen sie die Biosynthese (antianaboler Effekt).

In Konzentrationen, die höher als die physiologische Produktion sind, können mit Glucocortikoiden therapeutische Zwecke verfolgt werden. So bewirkt Cortisol in entsprechenden Dosen eine generelle Hemmung der Proteinbiosynthese. Da hierbei auch alle zellulären Abwehrreaktionen, u.a. auch die Fibrinbildung und die Leukozyteneinwanderung in Entzündungsgebiete verlangsamt oder aufgehoben werden, besitzt das Cortisol einen entzündungshemmenden Effekt und aufgrund der Hemmung der Proteinbiosynthese einen immunsuppressiven Effekt (7).

An der Epidermis wirken extern applizierte Glucocorticoide durch Beeinflussung der G₁- und der G₂-Phase des Zellzyklus proliferationshemmend und auf die Zelldifferenzierung fördernd. VOORHEES (58) führt diese Wirkung auf intraepidermale Glucocorticoidrezeptoren zurück. Daß oral applizierte Glucocorticoide sehr rasch einen antimitotischen Effekt in der menschlichen Haut hervorrufen, haben FISHER und MAIBACH (19) nachgewiesen.

Nach einer Untersuchung von BULLOUGH und LAURENCE (9) an Mäusen ist der antimitotische Effekt der Cortisols allein nicht signifikant bzw. von nur geringer Bedeutung. Jedoch soll es den Adrenalin-Chalon-Komplex stabilisieren, indem es die Abdiffusion des Adrenalins verlangsamt, und so eine ausgeprägte proliferationshemmende Wirkung in enger Verbindung mit Chalonen und Adrenalin entfaltet.

SCHELL (49) fand in einer Untersuchung bei 4 von insgesamt 6 Versuchspersonen eine um 6 Stunden verschobene negative Korrelation zwischen den tagesrhythmischen Schwankungen des Serumcortisolspiegels (Anstieg zwischen 24 Uhr und 6 Uhr) und des epidermalen ³H-Indexes (Abfall zwischen 6 Uhr und 12 Uhr). In einer weiteren Untersuchung von SCHELL et al. (50) sprechen die erhobenen proliferationskinetischen und hormonanalytischen Daten dafür, daß die tagesrhythmische Periodizität der epidermalen Proliferation vermutlich der (wahrscheinlich indirekten) Regulation durch den endogenen Cortisolspiegel im Blut unterliegt.

II. Prinzip und Anwendung der Histoautoradiographie bei zellkinetischen Untersuchungen

Die Autoradiographie beruht auf der Erkenntnis, daß ein Gewebe nach Aufnahme und Speicherung eines Radioisotops zur Strahlungsquelle wird, indem Energie durch Zerfall von instabilen Atomkernen freigesetzt und in einer photographischen Schicht durch Bildung von metallischem Silber die Lokalisation des Radioisotops im Gewebe möglich wird.

Bei der Untersuchung zellkinetischer Vorgänge erfolgt eine radioaktive Markierung der nukleären Desoxyribonucleinsäure (DNS). Von Vorteil ist hierbei, daß die nukleäre DNS in der intakten Zelle sehr stabil ist und nur einer extrem niedrigen Metabolisierung unterliegt. Durch Anwendung des Nucleosids Thymidin in radioaktiv markierter Form (^3H -Thymidin, ^{14}C -Thymidin), das selektiv während der DNS-Verdoppelungsphase in den Zellkern eingebaut wird, kann der Kern einer Zelle während der DNS-Verdoppelungsphase gekennzeichnet werden.

Mit der Histoautoradiographie lassen sich histologisch alle Zellen mit einer radioaktiven Markierung erkennen.

Der radioaktive DNS-Vorläufer ^3H -Thymidin wird dem lebenden Gewebe für eine bestimmte Zeit (radioaktive Verfügbarkeitszeit) angeboten, anschließend wird das Gewebe fixiert, ein histologischer Schnitt hergestellt und dieser Schnitt in der Dunkelkammer mit einer photographischen Schicht (Film, Emulsion) überzogen. In dieser Schicht entsteht während der Expositionszeit nur über den Zellkernen, die den radioaktiven DNS-Vorläufer während der DNS-Synthese eingebaut haben, eine Silberkornanhäufung, die nach Entwicklung und Fixation der Photoschicht unter

dem Mikroskop betrachtet werden kann. Nach Färbung des histologischen Schnittes kann die Silberkorn-Markierung in der photographischen Schicht den Zellkernen des Gewebsschnittes zugeordnet werden.

Grundsätzlich stehen zur Zellmarkierung mit radioaktiven DNS-Vorläufern zwei Methoden zur Verfügung, die in-vivo Methodik und die in-vitro Methodik.

1. Die in-vivo Methode

Bei der in-vivo Methode erfolgt die Applikation von radioaktivem Thymidin in den lebenden Gesamtorganismus. Sie kann intraarteriell, intravenös oder intracutan erfolgen. Verständlicherweise sind dieser Markierungsanwendung beim Menschen wegen der langen Halbwertszeit von ^3H -Thymidin (12,3 Jahre) und ^{14}C -Thymidin (5730 Jahre) und der damit verbundenen Strahlenbelastung mit Gefahr einer Genschädigung enge Grenzen gesetzt.

2. Die in-vitro Methode

Bei der in-vitro Methode erfolgt die Inkubation von Gewebeproben in ein Nährmedium, das den radioaktiv markierten DNS-Vorläufer enthält. Diese Methode bringt keinerlei Strahlenbelastung für den Organismus mit sich, da die Markierung der Zellen extrakorporal erfolgt.

Diese Methode setzt allerdings voraus, daß die DNS-Synthese in der entnommenen Gewebeprobe für eine gewisse Zeit ungestört weiterläuft, damit die zellkinetischen Parameter den in-vivo gewonnenen Ergebnissen entsprechen.

Folgende Versuchsbedingungen sind bei der in-vitro Methode gegenüber der in-vivo Methode zu beachten (49):

a) Inkubationstemperatur

Die Größe der Einbaurrate von radioaktiven DNS-Vorläufern ist in hohem Maße abhängig von der Inkubationstemperatur, bedingt durch temperaturabhängige Änderungen der Zellkinetik. So konnte gezeigt werden, daß mit steigender Temperatur eine Verkürzung der S-Phasenlänge eintrat, oder durch erniedrigte Temperatur die Mitoseaktivität gebremst wird. So konnte in tierexperimentellen Versuchen eine temperaturabhängige Schwankung der Einbaurrate von ^3H -Thymidin nachgewiesen werden.

b) Inkubationsdauer

Die Höhe der Einbaurrate von radioaktivem Thymidin hängt von der Inkubationsdauer ab. Erst nach einer Inkubationsdauer von mindestens 60 Minuten sind Markierungswerte zu erwarten, die den in-vivo-Verhältnissen entsprechen. Allerdings kann nach einstündiger Inkubation eine temporäre Verlangsamung der DNS-Synthese eintreten, wodurch die Einbaurrate des radioaktiven DNS-Vorläufers vermindert wird.

c) Eindringtiefe des ^3H -Thymidins

Die radioaktive in-vitro Markierung erfolgt nur im Randbereich des Gewebeblockes, da der Thymidineinbau vom Sauerstoffpartialdruck im Gewebe abhängt. Während bei Inkubation unter atmosphärischem Sauerstoffdruck ein Gewebe nur bis zu einer Tiefe von 100 μ bis 150 μ markiert wird, steigt die Markierungstiefe mit zunehmendem Sauerstoffpartialdruck auf bis zu 500 μ an.

Unter Berücksichtigung dieser Einschränkungen können mit der in-vitro Methode zellkinetische Daten erhalten werden, die den in-vivo Verhältnissen entsprechen. Aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Arbeit auch die in-vitro Methode angewendet.

III. Bedeutung des ^3H -Indexes

Zur Charakterisierung der proliferativen Aktivität eines Gewebes wird meist der ^3H -Thymidin-Markierungsindex (^3H -Index, Labelling Index, LI) angegeben. Der ^3H -Index gibt nach Markierung mit ^3H -Thymidin das im Histoautoradiogramm ermittelte Verhältnis von markierten Zellkernen zur Gesamtkernzahl einer Zellpopulation an.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der ^3H -Index gebildet aus dem Verhältnis von markierten Zellkernen basal und suprabasal zur Gesamtzahl der Basalzellen der untersuchten Gewebsschnitte:

$$^3\text{H-Index (\%)} = \frac{\text{markierte Zellen insgesamt}}{\text{Basalzellen insgesamt}} \times 100$$

Dem ^3H -Index ist gegenüber dem klassischen Mitoseindex (Verhältnis von Mitosen zur Gesamtzahl einer Zellpopulation) aus mehreren Gründen der Vorzug zu geben:

Zum einen ist die sichere Erkennung von Mitosefiguren und somit ihre quantitative Erfassung oft schwierig, zum anderen ist die Dauer der DNS-Verdopplungsphase (T_s) im allgemeinen um den Faktor 10 länger als die Mitosedauer und damit die Anzahl der mit radioaktivem Thymidin markierten Zellkerne auch um etwa das 10-fache höher. So kann die Bestimmung des ^3H -Indexes genauer erfolgen, als die des Mitoseindexes.

Allerdings stellt der ^3H -Index nur ein grobes Maß der proliferativen Aktivität eines Gewebes dar, da seine Größe

sowohl von der Länge der S-Phase (T_s), der Generationszeit (T_c) und von der Größe der Wachstumsfraktion des untersuchten Gewebes abhängt:

$$^3\text{H-Index} = \frac{T_s}{T_c}$$

IV. Prinzip und Anwendung des Radioimmunoassay (RIA)

Da in der vorliegenden Arbeit auch der Einfluß tageszeitlicher Schwankungen der Serumcortisolkonzentration auf das epidermale Wachstumsverhalten untersucht wurde, soll kurz auf ihr Bestimmungsprinzip eingegangen werden:

Die quantitative Bestimmung von Hormonen und anderen höhermolekularen Substanzen in Körperflüssigkeiten und Gewebsextrakten ist durch die Anwendung des Radioimmunoassay auf relativ einfache Art mit großer Genauigkeit möglich. Seine Grundlage bildet die Verknüpfung des Prinzips der Radioisotopenverdünnungsanalyse und der immunologischen Antigen-Antikörperreaktion. Durch die Verwendung radioaktiv markierter Verbindungen und immunologischer Reaktionen für die quantitative Analyse wird eine wesentlich größere Empfindlichkeit gegenüber älteren Bestimmungsmethoden erzielt und niedrige Substratkonzentrationen werden der quantitativen Analyse zugänglich.

Die zu bestimmende Substanz fungiert als unmarkiertes Antigen (Ag) und konkurriert mit der gleichen, jedoch radioaktiv markierten Verbindung, dem markierten Antigen (Ag^*) um den gemeinsamen Antikörper (Ak) nach dem Prinzip der Isotopenverdünnung unter Bildung eines Antigen-Antikörperkomplexes ($Ag-Ak$) (38, 71).

Dabei verhält sich die Menge radioaktiver $Ag^{*}Ak$ im Analysenansatz umgekehrt proportional zur Menge der nicht markierten und damit zur Menge der zu bestimmenden Substanz Ag . Nach Trennung der gebundenen Fraktion (F_1) von der ungebundenen (F_2) kann die gesuchte Konzentration durch Messung der Aktivität der Fraktion F_2 anhand einer Eichkurve bestimmt werden.

Die Anwendung des RIA für quantitative Analysen ist an mehrere Voraussetzungen gebunden. Die zu bestimmende Substanz muß ausreichende Antigenität besitzen oder in eine Verbindung überführbar sein, welche dieser Forderung genügt, beispielsweise als Hapten gekoppelt an ein Trägerprotein mit starker Wirksamkeit als Antigen.

Weiterhin muß das Antigen in möglichst reiner Form als radioaktiv markierte und als unmarkierte Verbindung dargestellt werden können.

Außerdem müssen die Herstellung eines spezifischen Antiserums und die Trennung von freiem und antikörpergebundenem markierten Antigen reproduzierbar gelingen (4, 8, 56, 71).

V. Versuchspersonen und Versuchsaufbau

1. Versuchspersonen

Die Untersuchungen wurden an 23 männlichen Patienten mit Psoriasis vulgaris im Alter zwischen 20 bis 46 Jahren, durchschnittliches Alter 33 Jahre, durchgeführt, die zur Behandlung in der Dermatologischen Universitätsklinik der Universität Erlangen-Nürnberg stationär aufgenommen waren. Bei allen Patienten wurde 2 Monate vor Entnahme der Biopsien auf eine externe und interne Cortikoidbehandlung verzichtet.

2. Versuchsaufbau

Es handelt sich bei der vorliegenden Untersuchung um eine gemischte Longitudinal/Transversalstudie. Die Untersuchungen wurden in 4 Serien eingeteilt, wobei die Serien I bis III mit jeweils 6 Versuchspersonen und die Serie IV mit 5 Versuchspersonen besetzt wurde. Jede Serie erstreckt sich über einen Zeitraum von 12 Stunden.

Für jede Serie wurden 4 Entnahmezeitpunkte im Abstand von jeweils 4 Stunden und jede Serie zeitversetzt um 2 Stunden festgelegt, sodaß mit den 4 gebildeten Serien in einem Abstand von 2 Stunden ein Zeitraum von 26 Stunden abgedeckt werden konnte.

Entsprechend unserer Versuchsplanung ergeben sich somit folgende Entnahmezeitpunkte für die einzelnen Serien:

	Entnahmezeitpunkte der einzelnen Stanzbiopsien (Uhrzeit)						
Serie I	8	12	16	20			
Serie II	10	14	18	22			
Serie III				20	24	4	8
Serie IV				22	2	6	10

Die folgenden Abbildungen 2 bis 5 zeigen getrennt nach den einzelnen Serien I bis IV in der ersten Spalte die Versuchsnummern, wie sie während der klinischen Abnahme der Biopsien für die einzelnen Probanden vergeben wurden. In der zweiten Spalte sind die insgesamt 23 Probanden von 1 bis 23 durchnummeriert. Auf diese Nummern wird auch in dieser Arbeit Bezug genommen. Die dritte Spalte gibt das Alter der einzelnen Versuchspersonen an.

Abb. 2

Abb. 3

<u>Serie I</u>			<u>Serie II</u>		
klin. Versuchsnummer	Versuchsperson	Alter	klin. Versuchsnummer	Versuchsperson	Alter
I	1	39	20	7	28
II	2	41	21	8	21
III	3	35	22	9	36
IV	4	25	25	10	25
VI	5	20	28	11	32
X	6	34	29	12	23

Abb. 4

Abb. 5

<u>Serie III</u>			<u>Serie IV</u>		
klin. Versuchsnummer	Versuchsperson	Alter	klin. Versuchsnummer	Versuchsperson	Alter
31	13	32	37	19	45
32	14	41	38	20	29
33	15	46	39	21	45
34	16	39	40	22	40
35	17	26	41	23	40
36	18	20			

3. Versuchsablauf

Die Untersuchungen wurden im Zeitraum von März 1979 bis Mai 1980 durchgeführt. Bei allen Probanden wurden zunächst pro Entnahmezeitpunkt jeweils 2 Hautbiopsien an klinisch unveränderter Epidermis gleicher Lokalisation (Oberarm-Innenseite) und anschließend 2 Venenblutproben entnommen. Jeweils 2 Biopsien lagen horizontal im Abstand von ca. 2 cm, die folgenden Biopsien lagen jeweils im Abstand von ca. 2 cm darunter.

Die Entnahme der Gewebeproben erfolgte mit Einmalstanzen mit einem Durchmesser von 3 mm, wobei vor der Entnahme eine Lokalanästhesie mit Scandicain 1. % ohne Vasokonstringenszusatz erfolgte.

VI. Technik der in-vitro Zellmarkierung

Sämtliche Biopsieproben kamen sofort nach ihrer Entnahme für den Transport in das autoradiographische Labor der Dermatologischen Universitätsklinik in ein auf 32° C vorgewärmtes inaktives Medium (Eagle's Minimum Essential Medium). Zwischen der Biopsieentnahme und dem Inkubationsbeginn im aktiven Medium lag durchschnittlich ein Zeitraum von 5 bis 10 Minuten.

Die Biopsieproben wurden in je 5 ml Inkubationsmedium (Eagle's Minimum Essential Medium), dem als radioaktiver DNS-Vorläufer ³H-Thymidin in einer Konzentration von 5 µCi/ml (spez. Aktivität 6 Ci/mMol, Hersteller Amersham Buchler, Braunschweig) zugegeben war, bei 32° C für 60 Minuten inkubiert.

Die angewandte Inkubationstemperatur von 32° C wurde deshalb gewählt, da die Einbaurrate von ³H-Thymidin bei 32° C am einheitlichsten ist.

Nach Inkubationsende wurden die Biopsieproben in Carnoy-Lösung (60 % abs. Alkohol, 30 % Chloroform, 10 % Eisessig) fixiert.

Herstellung der Histoautoradiogramme

Nach Fixierung kamen die Proben in abs. Alkohol (2 x 2 Stunden), anschließend über Methylbenzoat (3 x 4 bis 6 Stunden) in Benzol (2 x 15 Minuten) und in Benzol-Paraffin (30 Minuten) und wurden anschließend im Vakuum in Histoplast (Fa. Serva, Heidelberg) eingebettet. Nach Herstellung der Paraffinblöcke wurden senkrecht zur Epidermisoberfläche jeweils 4 µm dicke Serienschnitte, ca. 100 bis 120 pro Block, hergestellt und auf mit Chrom-Gelatine bezogene Objektträger aufgebracht. Nach Entparaffinierung in Xylol und Einbringen der Objektträger über eine absteigende Alkoholreihe in aqua dest. wurde in der Dunkelkammer der Film auf die Objektträger aufgezogen. Zur Anwendung kam der Stripping-Film AR 10 (Kodak), dessen Vorteil für quantitative autoradiographische Arbeiten in der konstanten Dicke der Photoemulsionsschicht besteht ($5\text{ }\mu\text{m} \pm 0,5\text{ }\mu\text{m}$ Photoemulsion auf $10\text{ }\mu\text{m}$ dicker Gelatine-trägersubstanz). Mit einer Kristallgröße von durchschnittlich $0,2\text{ }\mu\text{m}$ besitzt der Film eine ausreichende Empfindlichkeit und hohes Auflösungsvermögen ($1\text{ }\mu\text{m} - 5\text{ }\mu\text{m}$, abhängig von der Art der Strahlung). Die Expositionszeit der Präparate betrug 10 Tage bei $+ 4^{\circ}\text{C}$. Abschließend wurden die Histoautoradiogramme entwickelt, mit saurem Hämalaun nach MAYER differenziert, in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Eukitt eingebettet.

VII. Auswertung der Histoautoradiogramme und untersuchte zellkinetische Parameter

In jeder Stanzbiopsie (insgesamt 179) wurde anhand der Histoautoradiogramme an durchschnittlich 2.070 Basalzellen pro Stanze (1.708 als Minimum und 2.920 als Maximum) der Anteil der markierten Zellkerne in der Basalzellschicht und suprabasal bestimmt. Die Auswertung erfolgte vom Rand des Gewebesblockes nur bis zu einer Gewebstiefe von 150 µm, um eine bei der Inkubation eintretende Abnahme der Markierung in tieferen Gewebeschichten zu berücksichtigen. Die sichere Zählung der markierten Zellkerne sowie der unmarkierten Basalzellen wurde dadurch ermöglicht, daß über ein Mikroprojektionsgerät (Zeiss) die einzelnen Serienschnitte bei 500-facher Vergrößerung auf Papier projiziert und dann jede einzelne Basalzelle (markiert und unmarkiert) sowie jede markierte Suprabasalzelle auf ein Blatt (DIN A 4) gezeichnet wurde. Um zu vermeiden, daß eine doppelte Zählung der gleichen Zellen erfolgte, wurde nur jeder 3. Schnitt ausgewertet.

Aus den Biopsieproben wurden folgende zellkinetischen Parameter bestimmt:

1. Verhältnis markierter Zellen (basal und suprabasal zusammen) zur Gesamtzahl der ausgezählten Basalzellen (markierte und unmarkierte Basalzellen).

Daraus errechnet sich der ^3H -Index gesamt (%) wie folgt:

$$^3\text{H}\text{-Index gesamt \%} = \frac{\text{markierte Zellen gesamt}}{\text{Basalzellen gesamt}} \times 100$$

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb nur der ^3H -Index gesamt gebildet, da der Quotient zwischen markierten Suprabasalzellen und markierten Basalzellen der bei der gleichen

Versuchsperson gleichzeitig entnommenen Biopsieprobenpaare annähernd konstant ist (vgl. Tab. 1 bis 4 im Anhang, Spalte mSBZ/mBZ). Dieser Quotient beträgt im Mittelwert 1,24 % $\pm$ 0,66 %.

2. Die beiden Werte des ^3H -Indexes gesamt pro Versuchsperson und Versuchszeitpunkt wurden addiert und daraus der Mittelwert gebildet.

3. Bei Versuchsperson 4 aus der Serie I konnte zu den Entnahmezeitpunkten 12 Uhr, 16 Uhr und 20 Uhr nur jeweils eine einzige Stanzbiopsie entnommen werden.

Bei Versuchsperson 8 der Serie II fanden sich zum Entnahmezeitpunkt 10 Uhr und bei Versuchsperson 20 aus der Serie IV zum Entnahmezeitpunkt 6 Uhr in den Kontrollentnahmen eines jeweiligen Probenpaares in allen Schichten keine markierten Zellen. Hierbei dürfte es sich wohl um Artefakte handeln. Bei diesen Versuchspersonen wurde deshalb der ermittelte Wert nur von einer Stanzbiopsie für den 10 Uhr-Wert bzw. für den 6 Uhr-Wert zugrunde gelegt.

VIII. Methodik bei der Auswertung der Einzelergebnisse

Bei dieser Studie standen aufgrund der Versuchsbedingungen nur eine relativ geringe Anzahl von Testpersonen innerhalb einer vorgegebenen Zeitspanne zur Verfügung.

Deshalb und auch wegen der großen Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungen in Bezug auf tageszeitliche Schwankungen wurde von einer statistischen Auswertung der Ergebnisse abgesehen und lediglich eine Deskription der gewonnenen Daten aufgrund graphischer Darstellungen vorgenommen. Dadurch ist es möglich, die individuell unterschiedlichen Werte möglichst unverfälscht darzustellen und zu beurteilen (die Beratung hinsichtlich statistischer Fragen und Darstellung der Einzelergebnisse erfolgte durch Frau Dr. Dr. Guggenmoos-Holzmann des Instituts für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Erlangen-Nürnberg).

C. Ergebnisse

I. Epidermaler ^3H -Index

1. Von den insgesamt entnommenen 181 Hautproben konnten lediglich 2 Proben der Versuchsperson 8 aus Serie II, 10 Uhr-Wert und der Versuchsperson 20 aus Serie IV, 6 Uhr-Wert, nicht ausgewertet werden, da sich bei diesen Proben in allen Schnitten keine markierten Zellen fanden. Bei diesen Versuchspersonen wurde deshalb der ^3H -Index nur aus einer Stanzbiopsie gebildet. Die Versuchsperson 4 aus Serie I ließ sich zu den Entnahmezeitpunkten 12 Uhr, 16 Uhr und 20 Uhr nur jeweils eine einzige Stanzbiopsie entnehmen. Die somit auswertbaren 179 Hautproben waren durchweg gut und gleichmäßig weit über 120 μm Tiefe hinaus, meist sogar über die gesamte Länge der Basalmembran markiert.

2. Die Schnittrichtung war bei allen Präparaten annähernd senkrecht zur Epidermisoberfläche gelegen. Es fanden sich nirgends Hinweise auf einen vorzeitigen Zelltod während der Inkubation.

3. Die Markierungen waren eindeutig den betreffenden Zellen zuzuordnen. Auffällig war, daß häufig mehrere Basalzellen nebeneinander markiert waren und daß manchmal äußerst wenige markierte Zellen einer großen Zahl von unmarkierten Zellen gegenüberstanden.

Die zellkinetischen Einzeldaten sind für die Versuchspersonen 1 bis 23 in den Tabellen 1 bis 4 zusammengefaßt (siehe unter Abschn. G., Anhang mit Tabellen).

4. Die beiden Werte eines Probenpaares zeigen zum Teil sehr unterschiedlich große Abweichungen voneinander (im kleinsten Wert 0,39 %, Versuchsperson 12, 22 Uhr-Wert und die größte Abweichung mit 54,37 %, Versuchsperson 11, 18 Uhr-Wert).

Im Durchschnitt aller 86 Probenpaare beträgt die mittlere Abweichung $18,79 \% \pm 14,68 \%$.

5. Die Mittelwerte des ^3H -Index gesamt, aus jeweils einem Probenpaar errechnet, zeigen bei allen Versuchspersonen über den gesamten Versuchszeitraum deutliche Schwankungen (vgl. Abb. 6).

II . Darstellung der Ergebnisse

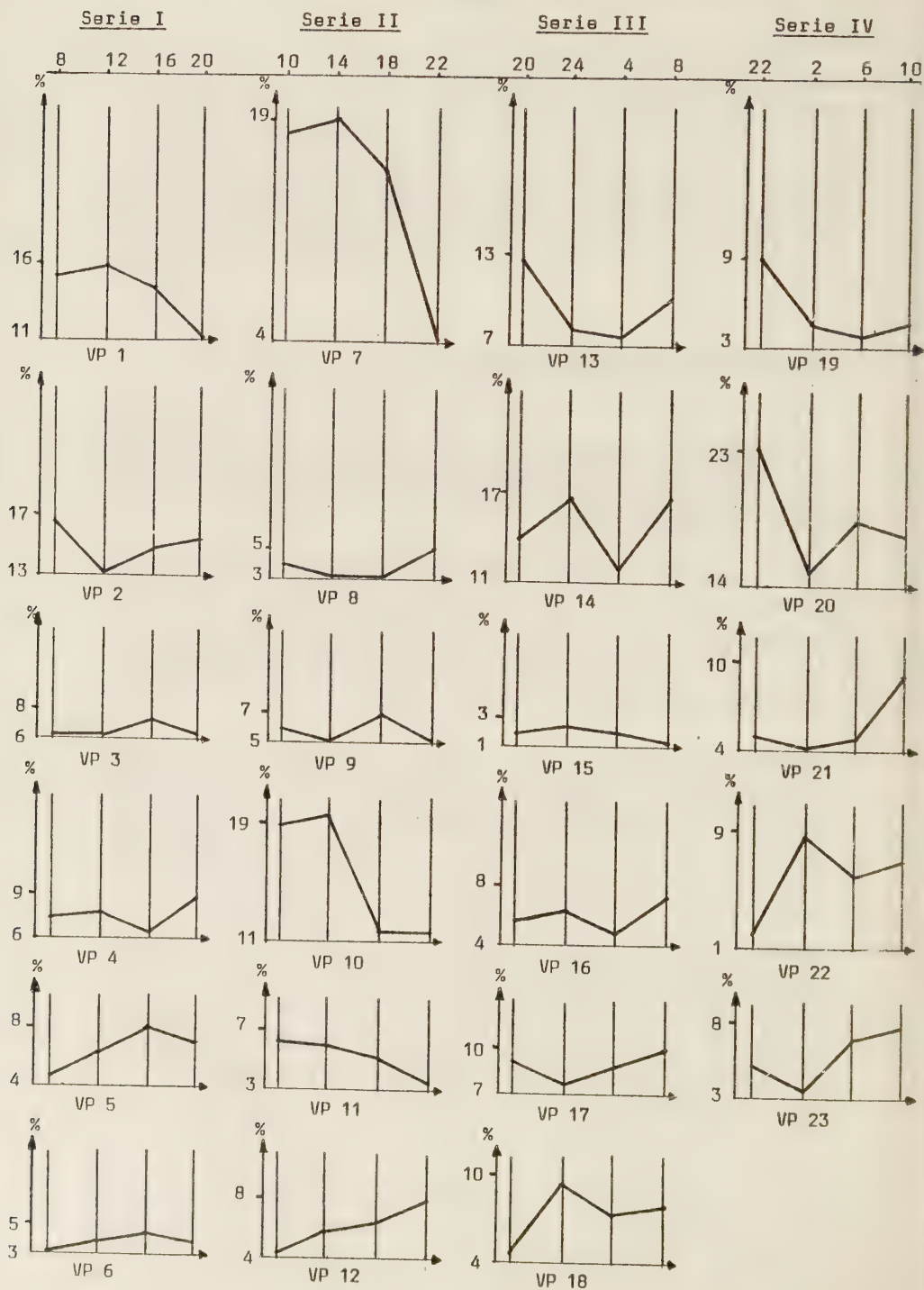
1. Graphische Darstellung der absoluten Werte des ^3H -Indexes gesamt (%), jeweils getrennt nach den Serien I bis IV, für alle 23 Versuchspersonen

Die 23 Graphiken der Abb. 6 zeigen die ermittelten Werte für den ^3H -Index gesamt (vgl. Tab. 1 bis 4 im Abschn. G., Anhang, mit Tabellen), getrennt für jeden einzelnen der insgesamt 23 Versuchspersonen entsprechend der zeitlichen Abfolge der Entnahmen der einzelnen Stanzbiopsien.

Es ist zu beachten, daß in den einzelnen Graphiken für jede Versuchsperson nur jeweils der Bereich dargestellt ist, innerhalb dem auch die einzelnen Werte liegen, d. h. die Ordinaten beginnen nicht in allen Fällen bei Null, sondern bei dem jeweils niedrigsten Wert der einzelnen Versuchsperson.

Ferner ist zu berücksichtigen, daß es sich bei den dargestellten Kurvenverläufen lediglich um eine lineare Verbindung der jeweiligen Einzelwerte handelt und nicht um ermittelte Werte zwischen den jeweiligen Entnahmezeitpunkten. Dies gilt für alle in dieser Arbeit dargestellten Graphiken.

- 36 -
Abb. 6: Übersichtsdarstellung der Mittelwerte für den 3H -Index (%) aus
 jeweils einem Probenpaar für alle 23 Versuchspersonen



Erläuterungen zu Abb. 6.:

Aus der Übersichtsdarstellung des ^3H -Indexes gesamt für alle 23 Versuchspersonen kann man ersehen, daß jede Versuchsperson einen eigenen individuellen Verlauf für den ^3H -Index aufweist. Dies gilt sowohl für:

a) das Niveau, auf dem sich die Werte jeder einzelnen Versuchsperson bewegen, als auch

b) den individuellen tageszeitlichen Verlauf der einzelnen Werte.

So liegen die Werte für gleiche Entnahmezeitpunkte für den ^3H -Index für Versuchsperson 6 zwischen 3 % und 5 %, während sie bei Versuchsperson 2 zwischen 13 % und 17 % liegen. Dies kann an allen 4 Serien bei jeweils identischen Entnahmezeitpunkten verfolgt werden. Es schwanken die Werte in Serie II der Versuchsperson 8 zwischen 3 % und 5 %, während sie bei Versuchsperson 10 zwischen 11 % und 19 % liegen.

In Serie III schwanken die Werte zwischen 1 % und 3 % bei Versuchsperson 15 und zwischen 11 % und 17 % bei Versuchsperson 14.

In Serie IV schwanken die Werte für den ^3H -Index zwischen 3 % und 8 % bei Versuchsperson 23 und zwischen 14 % und 23 % bei Versuchsperson 20.

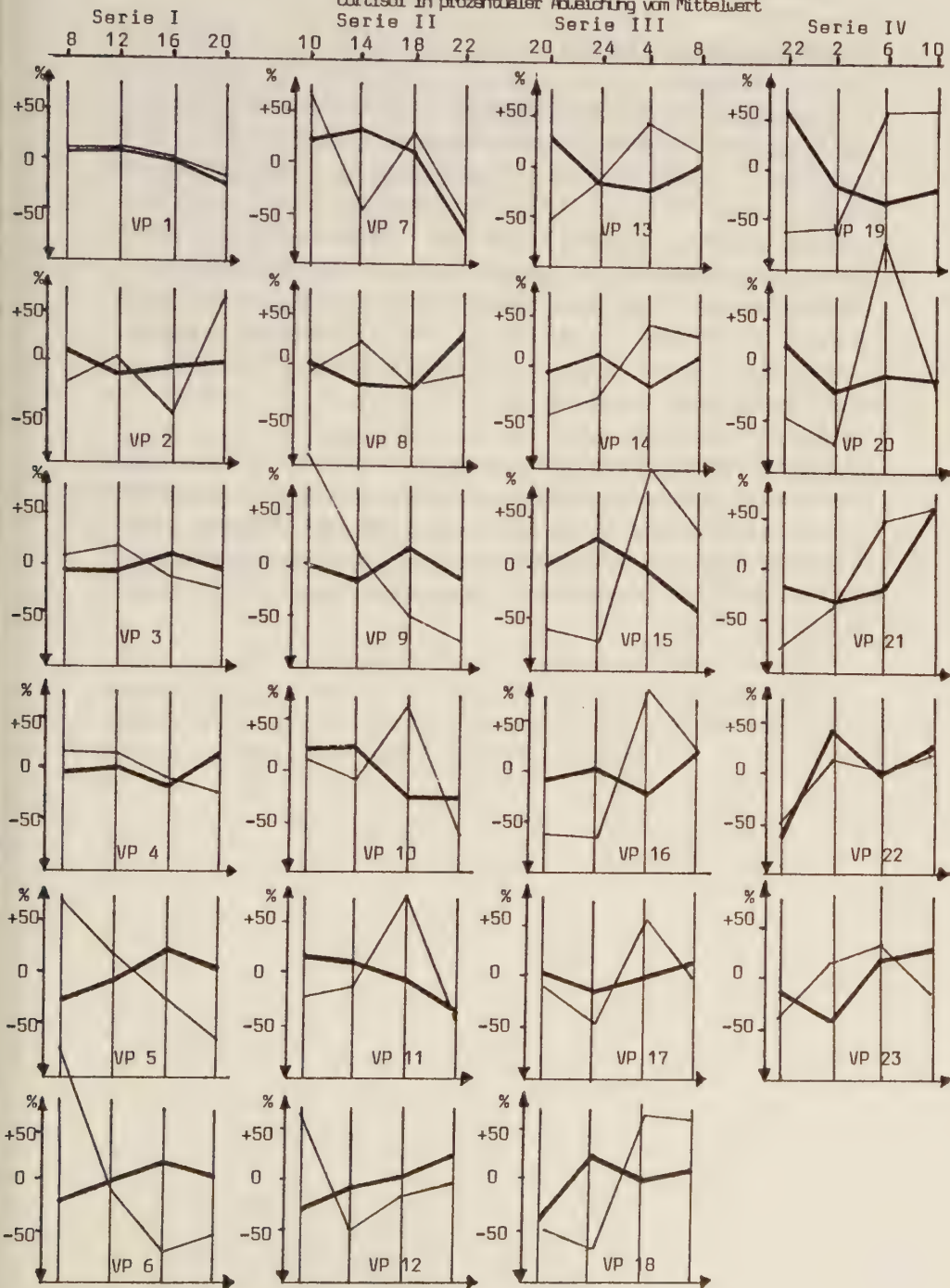
Auch die tageszeitlichen Schwankungen sind nicht bei allen Versuchspersonen innerhalb der einzelnen Serien gleichsinnig. So ist die Tendenz der Werte in Serie I bei Versuchsperson 1 fallend, während sie bei Versuchsperson 5 und 5 steigend ist und bei Versuchsperson 2 und 4 von einem Abnahmezeitpunkt zum anderen unterschiedliche Tendenzen aufweisen.

Auch aus den Darstellungen in den Serien II, III und IV lassen sich keine gleichsinnigen, kongruenten Kurvenverläufe bei den einzelnen Versuchspersonen innerhalb einer Serie feststellen.

2. Die Graphiken der Abb. 7 zeigen den ^3H -Index gesamt und die Werte für Cortisol in prozentualer Abweichung vom jeweiligen Mittelwert der einzelnen Versuchspersonen.

Abb. 7: Übersichtsdarstellung der korrespondierenden Werte für alle 23 Versuchspersonen

3-Index gesamt in prozentualer Abweichung vom Mittelwert
Cortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert



Erläuterungen zu Abb. 7.:

Während die Werte für den ^3H -Index in prozentualer Abweichung vom Mittelwert ähnlich den absoluten Werten für den ^3H -Index individuell unterschiedliche tageszeitliche Schwankungen aufweisen, lassen sich für das Hormon Cortisol (Serumcortisol) insbesondere bei den Serien III und IV tageszeitliche gleichsinnige Schwankungen der Versuchspersonen innerhalb einer Serie erkennen, wobei niedrige Werte in den Abend- und Nachtstunden von 20 Uhr, 22 Uhr und 24 Uhr vorherrschen und ein steiler Anstieg der Werte in den frühen Morgenstunden um 4 Uhr und 6 Uhr erfolgt.

Bezüglich der Korrelation zwischen ^3H -Index und Serumcortisol lassen sich anhand dieser Graphiken keine besonderen Auffälligkeiten feststellen. Die beiden Kurven für den ^3H -Index und für Cortisol verlaufen teils gleichsinnig (Versuchspersonen 1, 4, 20, 22) und teils gegensinnig (Versuchspersonen 5, 13, 14, 15, 16, 18 und 19).

3. In Abb. 8 bis 11 sind die Werte für den ^3H -Index gesamt in prozentualer Abweichung vom Mittelwert zusammen mit den Werten für Serumcortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert, getrennt nach den Serien I. bis IV, zusammen in einer Graphik aufgetragen.

Um die Übersichtlichkeit der Darstellung zu gewährleisten, wurden die korrespondierenden Werte für Serumcortisol des jeweils gleichen Entnahmezeitpunktes um ca. 2 mm nach rechts versetzt dargestellt.

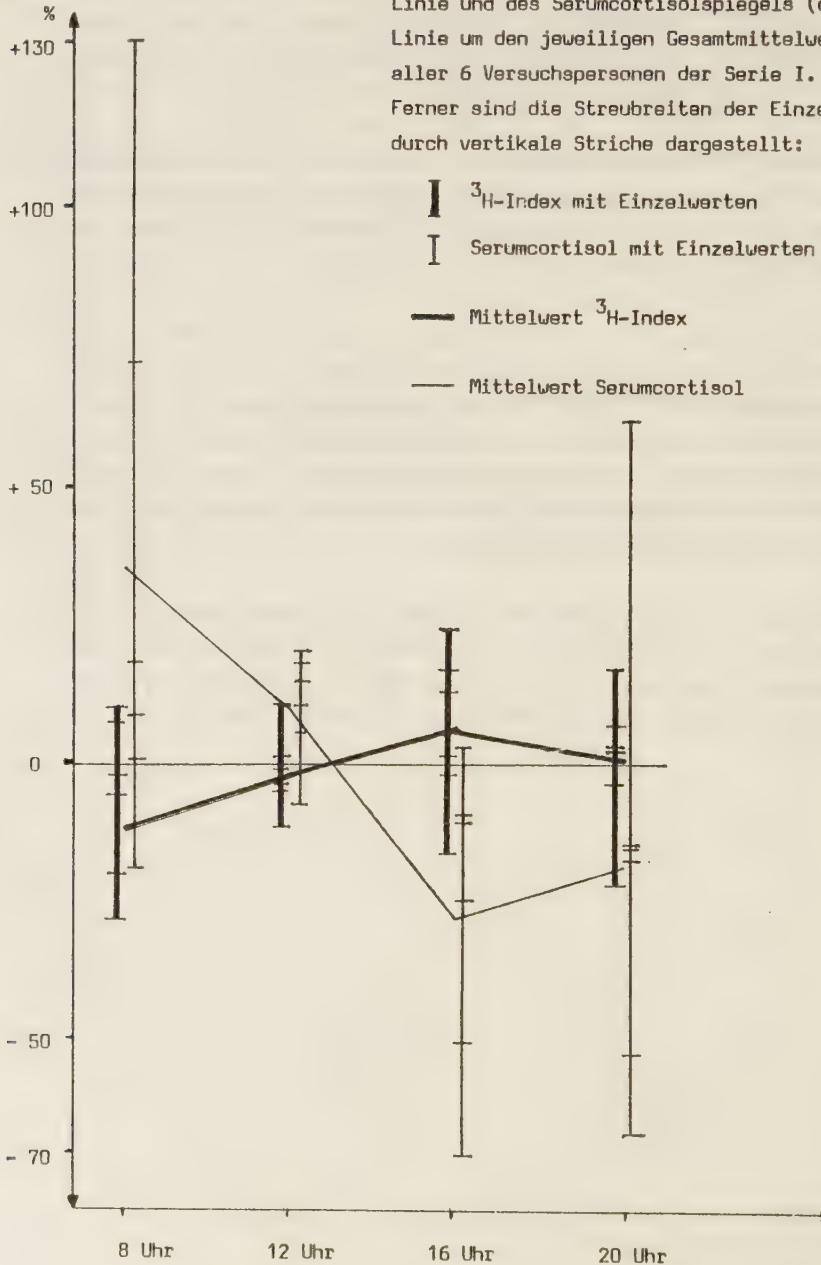
Der Wertebereich für jeden Entnahmezeitpunkt ist beim ^3H -Index und bei Serumcortisol durch einen vertikalen Strich (dicke Linie für den ^3H -Index und dünne Linie für Serumcortisol) dargestellt. Die Mittelwerte für den ^3H -Index sind ebenfalls durch einen dicken Strich und die Mittelwerte für Serumcortisol durch eine dünne Linie linear miteinander verbunden dargestellt.

Diese Art der graphischen Darstellung wurde gewählt, um zu zeigen, wie die Werte des ^3H -Indexes gesamt mit den korrespondierenden Werten für Serumcortisol (jeweils in prozentualer Abweichung vom Mittelwert) korrelieren.

Serie I: Versuchspersonen 1 bis 6

prozentuale Ab-
weichung vom
Mittelwert

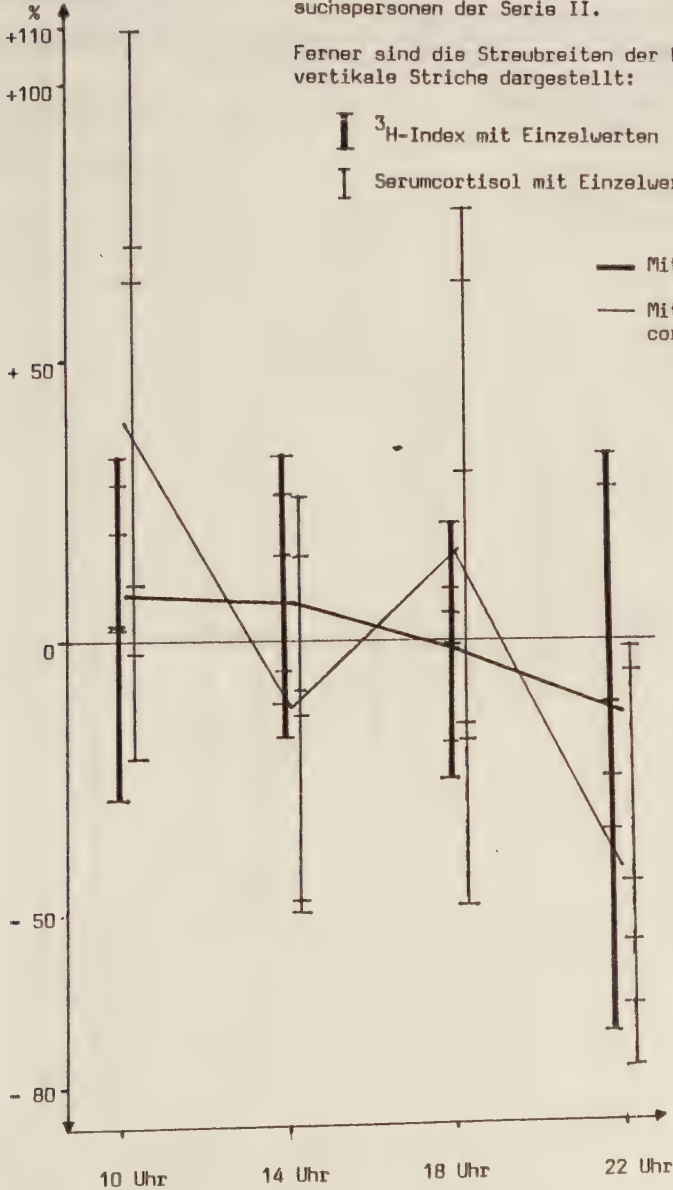
Abb. 8: Prozentuale tageszeitliche Schwankungen des Mittelwertes des ^3H -Indexes gesamt (dicke Linie) und des Serumcortisolspiegels (dünne Linie) um den jeweiligen Gesamtmittelwert aller 6 Versuchspersonen der Serie I. Ferner sind die Streubreiten der Einzelwerte durch vertikale Striche dargestellt:



Serie II: Versuchspersonen 7 bis 12

Abb. 9: Prozentuale tageszeitliche Schwankungen des Mittelwertes des ^3H -Indexes gesamt (dicke Linie) und des Serumcortisolspiegels (dünne Linie) um den jeweiligen Gesamtmittelwert aller 6 Versuchspersonen der Serie II.

prozentuale
Abweichung
vom Mittelwert

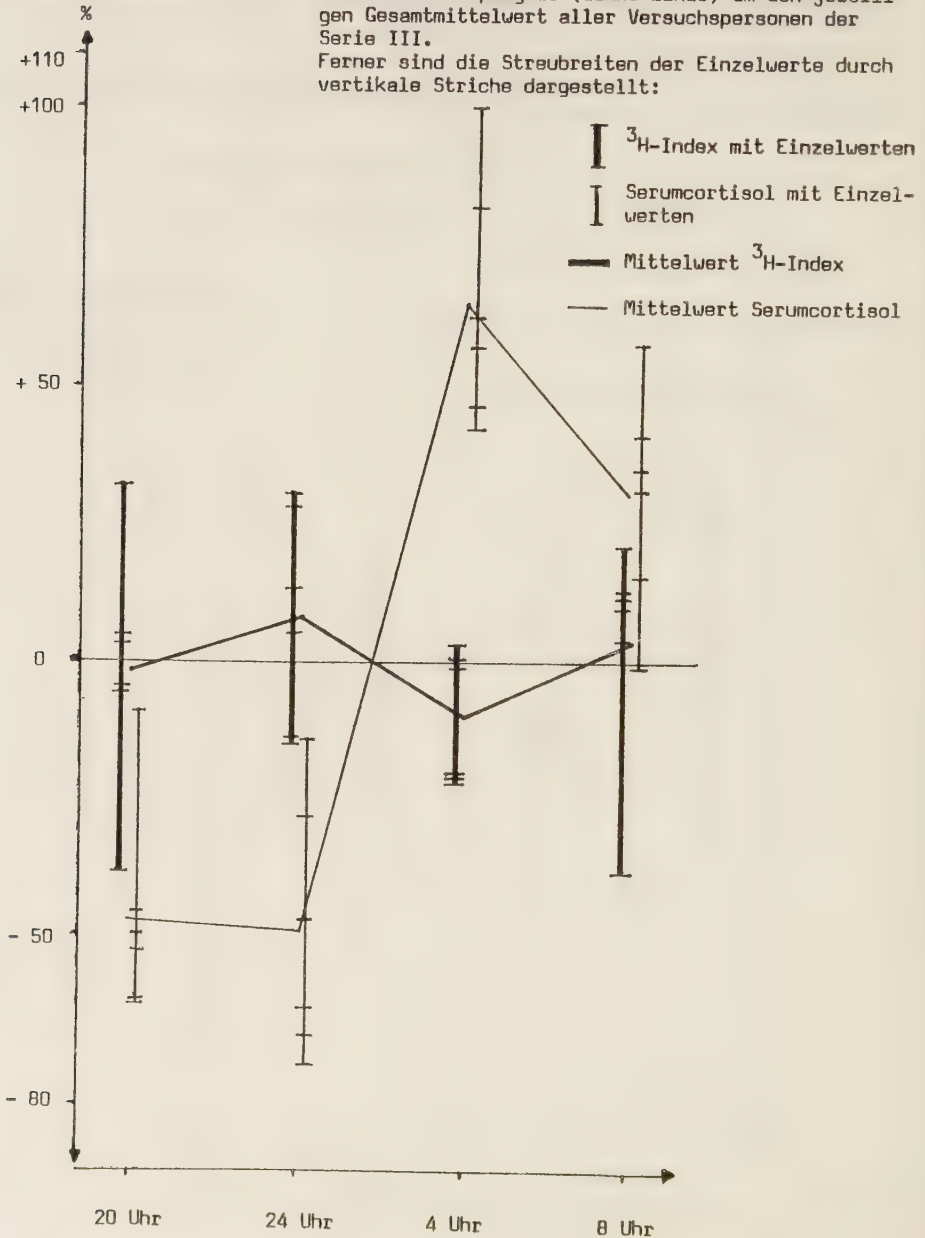


Serie III: Versuchspersonen 13 bis 18

prozentuale
Abweichung
vom Mittelwert

Abb. 10: Prozentuale tageszeitliche Schwankungen des Mittelwertes des ^3H -Indexes gesamt (dicke Linie) und des Serumcortisolspiegels (dünne Linie) um den jeweiligen Gesamtmittelwert aller Versuchspersonen der Serie III.

Ferner sind die Streubreiten der Einzelwerte durch vertikale Striche dargestellt:



prozentuale
Abweichung
vom Mittelwert

Serie IV: Versuchspersonen 19 bis 23

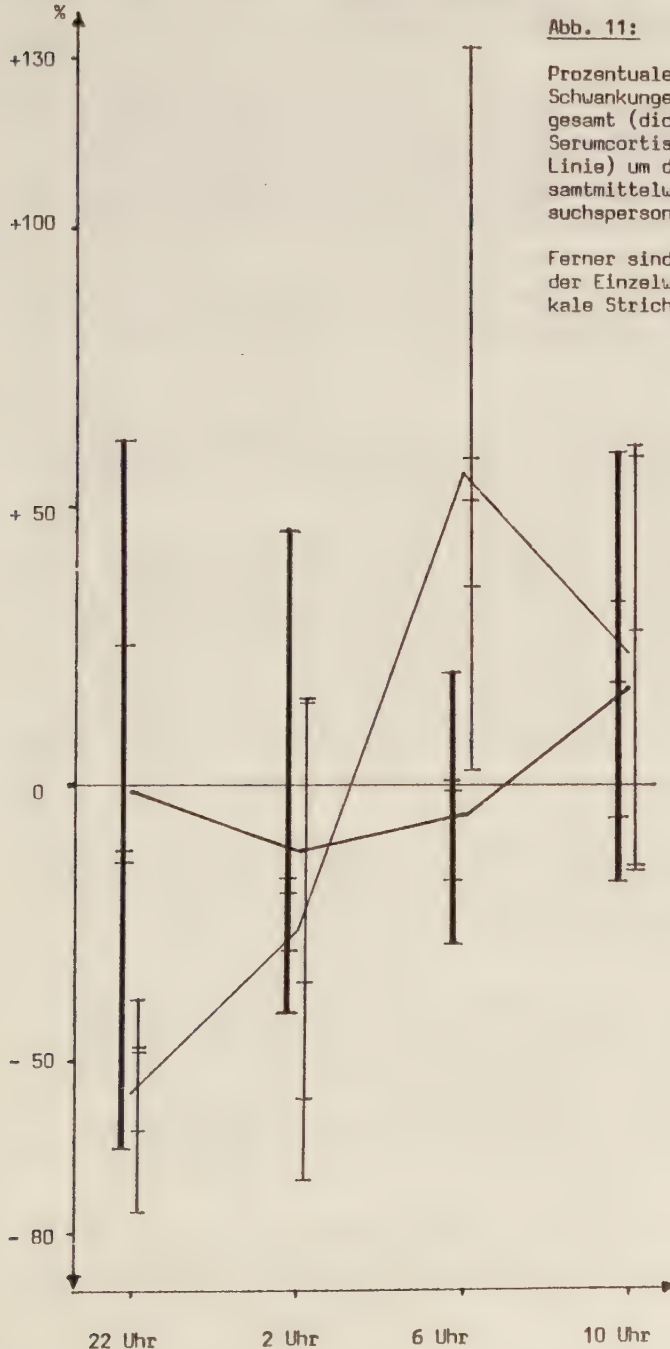


Abb. 11:

Prozentuale tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes gesamt (dicke Linie) und des Serumcortisolspiegels (dünne Linie) um den jeweiligen Gesamtmittelwert aller 5 Versuchspersonen der Serie IV.

Ferner sind die Streubreiten der Einzelwerte durch vertikale Striche dargestellt:

- I ^3H -Index mit Einzelwerten
- I Serumcortisol mit Einzelwerten
- Mittelwert ^3H -Index
- Mittelwert Serumcortisol

Erläuterungen zu den Abb. 8 bis Abb. 11:

Bei den vorstehenden Graphiken ist auffällig, daß zu bestimmten Entnahmezeitpunkten alle Werte der jeweils 6 bzw. 5 Versuchspersonen entweder oberhalb oder unterhalb der Null-Linie, also jeweils entweder oberhalb oder unterhalb des jeweiligen, für jede Versuchsperson ermittelten individuellen Mittelwert liegen, oder aber um den jeweils individuellen Mittelwert nach oben (positiv) oder nach unten (negativ) streuen.

So ist in Serie I bei den Werten für den ³H-Index auffällig, daß alle Werte sämtlicher 4 Entnahmezeitpunkte um den Mittelwert (Null-Linie) streuen, in Serie II um 14 Uhr alle Werte um den Mittelwert bzw. darüber liegen, in Serie III um 4 Uhr alle Werte um den individuellen Mittelwert oder darunter liegen, in der gleichen Serie um 8 Uhr alle Werte bis auf eine einzige Ausnahme (VP 15) über dem individuellen Mittelwert liegen, in Serie IV alle Werte um 2 Uhr bis auf einen Wert (VP 22) unterhalb des individuellen Mittelwertes liegen, um 6 Uhr um den Mittelwert streuen und um 10 Uhr ebenfalls um den Mittelwert streuen bzw. deutlich darüber liegen.

Bei den entsprechenden Werten für Serumcortisol läßt sich anhand der vorstehenden Graphiken ebenfalls zeigen, daß hier auffällige Schwankungen um den Mittelwert vorliegen.

So ist auffällig, daß in Serie I fast alle Werte für 8 Uhr und für 12 Uhr oberhalb und für 16 Uhr und 20 Uhr, bis auf eine einzige Ausnahme (VP 1 für 16 Uhr und VP 2 für 20 Uhr), unterhalb der Null-Linie liegen.

In Serie II ist auffällig, daß fast alle Werte für 14 Uhr und für 22 Uhr nahe bzw. unterhalb der Null-Linie liegen (Ausnahme VP 8 und VP 9).

In Serie III ist auffällig, daß ausnahmslos alle Werte für 20 Uhr und für 24 Uhr unterhalb und alle Werte für 4 Uhr und

8 Uhr oberhalb der Null-Linie liegen (Ausnahme VP 17, 8 Uhr-Wert mit -0,86 %).

In Serie IV ist auffällig, daß es eine konstante Steigerung der einzelnen Werte von 22 Uhr bis 6 Uhr bzw. 10 Uhr gibt. So liegen alle Werte für 22 Uhr noch unterhalb der Null-Linie, um 2 Uhr lediglich 2 Werte oberhalb der Null-Linie (VP 22 und VP 23) und alle Werte für 6 Uhr oberhalb der Null-Linie.

Im Gegensatz zum Serumcortisol lassen sich für den ^3H -Index innerhalb der einzelnen Serien keine einheitlichen tageszeitlichen Schwankungen erkennen. So ist in Abb. 8 für die Serie I zu sehen, daß die Werte für den ^3H -Index alle um die Null-Linie gleichmäßig schwanken, während die Werte von allen Versuchspersonen für Serumcortisol um 8 Uhr und um 12 Uhr alle oberhalb und um 16 Uhr bereits alle unterhalb der Null-Linie liegen.

Auch für Serie II zeigt Abb. 9 für den ^3H -Index keine auffälligen Schwankungen, im Gegensatz zu den Serumcortisolwerten. In Abb. 10 ist bei Serie III auffällig, daß alle Werte für den ^3H -Index um 4 Uhr unterhalb der Null-Linie und alle Werte für Serumcortisol um 20 Uhr und 24 Uhr unterhalb und für 4 Uhr und 8 Uhr alle Werte für Serumcortisol oberhalb der Null-Linie liegen.

Nimmt man von allen Werten sowohl für den ^3H -Index als auch für Serumcortisol von allen Entnahmezeitpunkten den Mittelwert (durchgezogene dicke Linie für den ^3H -Index und durchgezogene dünne Linie für Serumcortisol), so läßt sich aus dieser Darstellung eine direkte Gegenläufigkeit beider Werte für die Serie III erkennen.

In Serie IV ist die Streuung der Werte für den ^3H -Index zu groß, als daß hier auf tageszeitliche Schwankungen innerhalb der Serie geschlossen werden könnte. So streuen alle Werte für den ^3H -Index relativ gleichmäßig nach oben und unten um den Mittelwert.

4. In Abb. 12 sind alle Mittelwerte mit der zugehörigen Standardabweichung sowohl für den ^3H -Index gesamt in prozentualer Abweichung vom Mittelwert als auch für Serumcortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert aufgetragen. Die Darstellung erfolgte nunmehr nicht getrennt nach den Serien I bis IV, sondern der zeitlichen Abfolge entsprechend in chronologischer Reihenfolge (über die Dauer des gesamten Versuchszeitraumes von 26 Stunden).

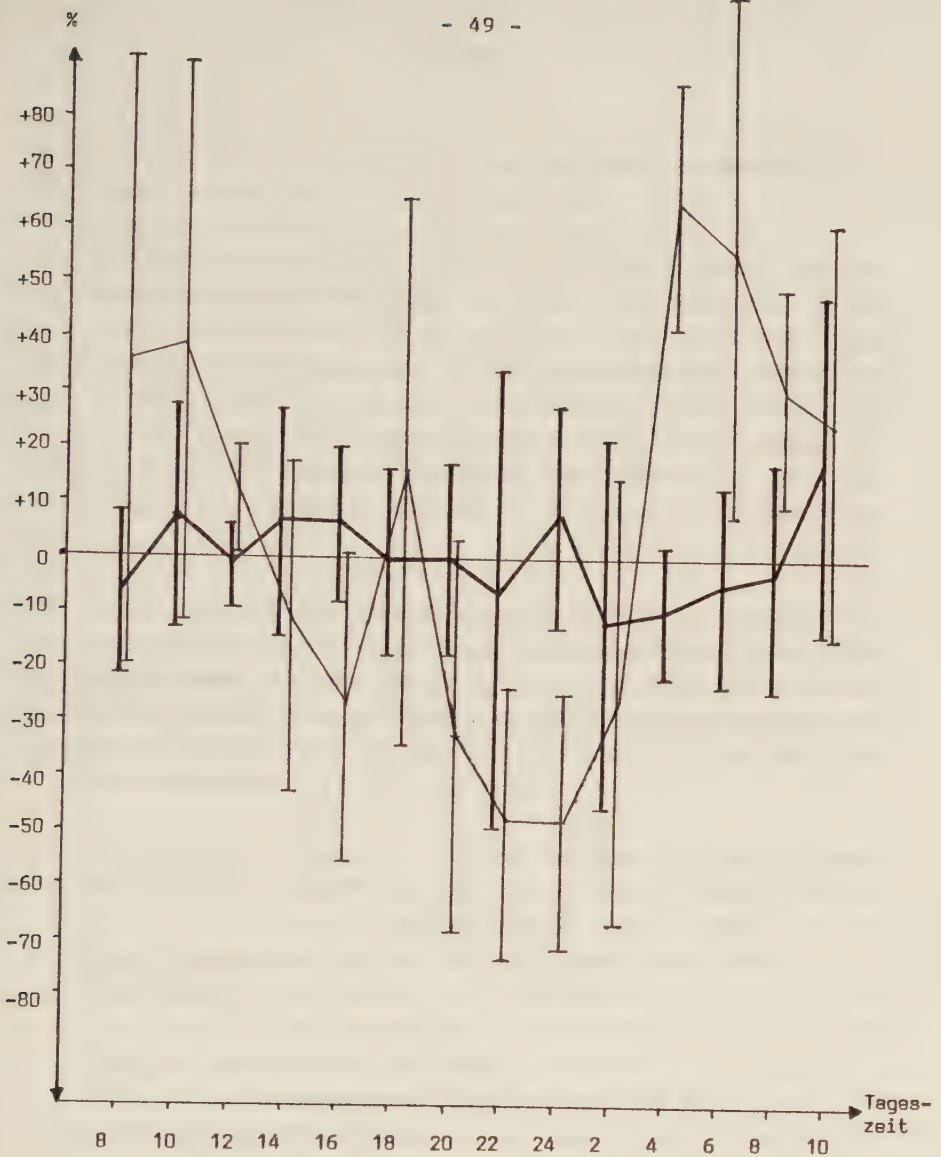


Abb. 12: Prozentuale tageszeitliche Schwankungen des Mittelwertes des epidermalen ^3H -Indexes (dicke Linie) und des Serumcortisolspiegels (dünne Linie) über 26 Stunden bei allen 23 Versuchspersonen.

Die vertikale durchgezogene Linie (dicke Linie) gibt die Standardabweichung für den ^3H -Index an.

Die vertikale dünne Linie gibt die Standardabweichung für Serumcortisol an.

Erläuterungen zu Abb. 12:

Aus vorstehender Graphik (Abb. 12) ist zu ersehen, daß für den ^3H -Index die Werte aller 23 Versuchspersonen relativ gleichmäßig nach oben und unten um die Null-Linie streuen. Eine auffällige Verteilung mit Maxima oder Minima ergibt sich daraus nicht. Lediglich der Gesamtmittelwert aller Versuchspersonen (durchgezogene dicke Linie) zeigt tageszeitliche Schwankungen mit Maxima und Minima:

Maxima: 10, 14, 16, 24 und 10 Uhr

Minima: 22 und 2 Uhr.

Bei den Werten für Serumcortisol ist auffällig, daß in den Abend- und Nachtstunden eine kontinuierliche Abnahme der Werte erfolgt (18 Uhr bis etwa 24 Uhr) und ein sprunghafter Anstieg in den frühen Morgenstunden (etwa ab 4 Uhr) zu verzeichnen ist. Um 4 Uhr hatten auch alle Versuchspersonen der Serie III ein Maximum in ihren Serumcortisolwerten gezeigt.

Bezüglich der Korrelation der beiden Werte für den ^3H -Index und für Serumcortisol lassen sich von Versuchsbeginn 8 Uhr bis etwa 20 Uhr keine Auffälligkeiten erkennen.

Erst ab Versuchszeitpunkt 22 Uhr bis zum Versuchsende um 10 Uhr ist mit Einschränkungen eine direkte negative Korrelation der beiden korrespondierenden Werte für den ^3H -Index und Serumcortisol zu vermuten, wobei die Schwankungen für den ^3H -Index jedoch bei weitem nicht so ausgeprägt sind, wie für Serumcortisol. Ferner ist zu berücksichtigen, daß die Maxima und Minima für den Gesamtmittelwert des ^3H -Indexes innerhalb der Streubreiten der Einzelwerte für den ^3H -Index liegen.

5. Die folgenden beiden Abbildungen 13 und 14 zeigen die Häufigkeitsverteilung der jeweiligen Maxima und Minima einer Versuchsperson, und zwar sowohl für:

a) den ^3H -Index (Abb. 13) und

b) Serumcortisol (Abb. 14).

Dabei wurde ermittelt, wann die einzelnen Versuchspersonen sowohl für den ^3H -Index als auch für Serumcortisol ihren Maximalwert und zu welchem Zeitpunkt sie ihren Minimalwert aufwiesen.

Die Zahlen 1 bis 6 der Ordinaten geben deshalb an, wieviele Versuchspersonen zu dem jeweiligen Entnahmezeitpunkt ein Maximum bzw. ein Minimum aufwiesen. Die römischen Zahlen neben den Uhrzeitangaben ordnen die Entnahmezeitpunkte den jeweiligen Serien I bis IV zu.

Abb. 13:

Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima
jeder Versuchsperson
für den ^3H -Index gesamt (%)

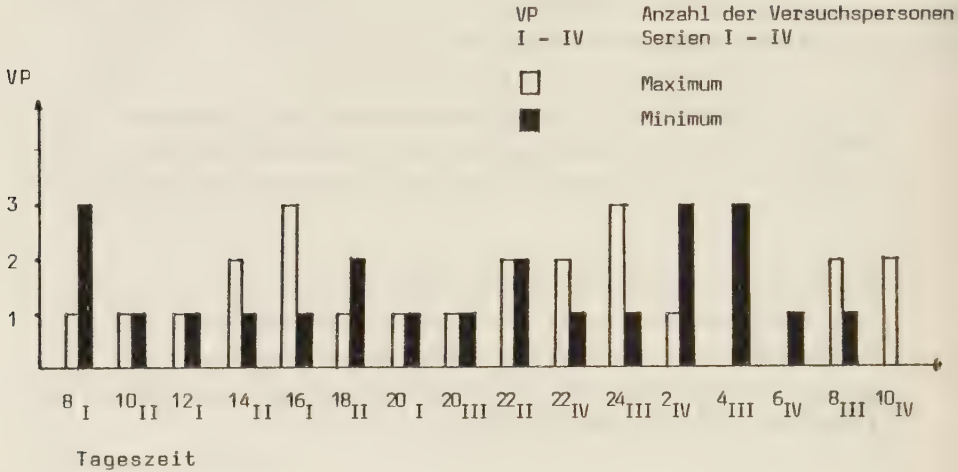
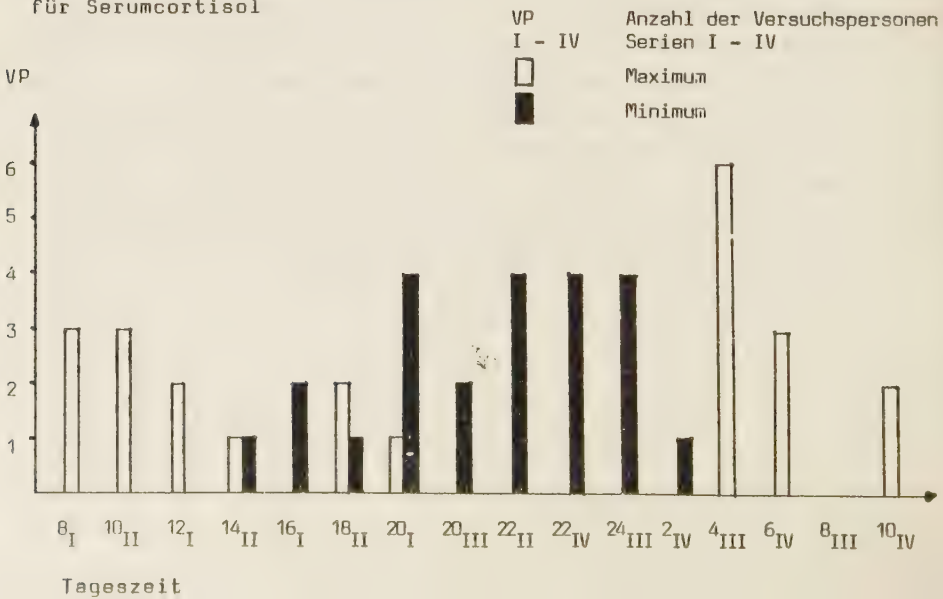


Abb. 14:

Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima
jeder Versuchsperson
für Serumcortisol



Erläuterungen zu Abb. 13 und 14:

Bei der Verteilung der Maxima und Minima für den ^3H -Index ist auffällig, daß diese über den gesamten Versuchszeitraum relativ gleichmäßig verteilt sind, mit Ausnahme der Zeitpunkte 4 Uhr und 6 Uhr, mit Einschränkung noch der Entnahmezeitpunkt 2 Uhr.

Bei den Entnahmezeiten 4 Uhr und 6 Uhr ist die Tatsache auffällig, daß hier kein einziger Proband in seinem Wert für den ^3H -Index ein Maximum aufweist. Um 4 Uhr tritt bei insgesamt 3 Probanden der Serie III ein Minimum auf. Um 6 Uhr hat noch eine einzige Versuchsperson der Serie IV ein Minimum und keine einzige Versuchsperson ein Maximum.

Ferner ist auffällig, daß auch um 2 Uhr drei von fünf Versuchspersonen der Serie IV ein Minimum aufweisen und nur eine einzige Versuchsperson ein Maximum.

Im Vergleich dazu stehen die Werte für Serumcortisol, wobei auffällig ist, daß während der Entnahmezeiten von 8 Uhr bis 14 Uhr und von 4 Uhr bis 10 Uhr bei keiner einzigen Versuchsperson ein Minimum auftritt, während ab etwa 16 Uhr bis 2 Uhr vermehrt Minima auftraten, von 22 Uhr bis 2 Uhr sogar keine einzige Versuchsperson ein Maximum aufweist.

Ganz besonders auffällig ist der Entnahmezeitpunkt 4 Uhr. Hier haben alle 6 Versuchspersonen aus Serie III ihren Maximalwert.

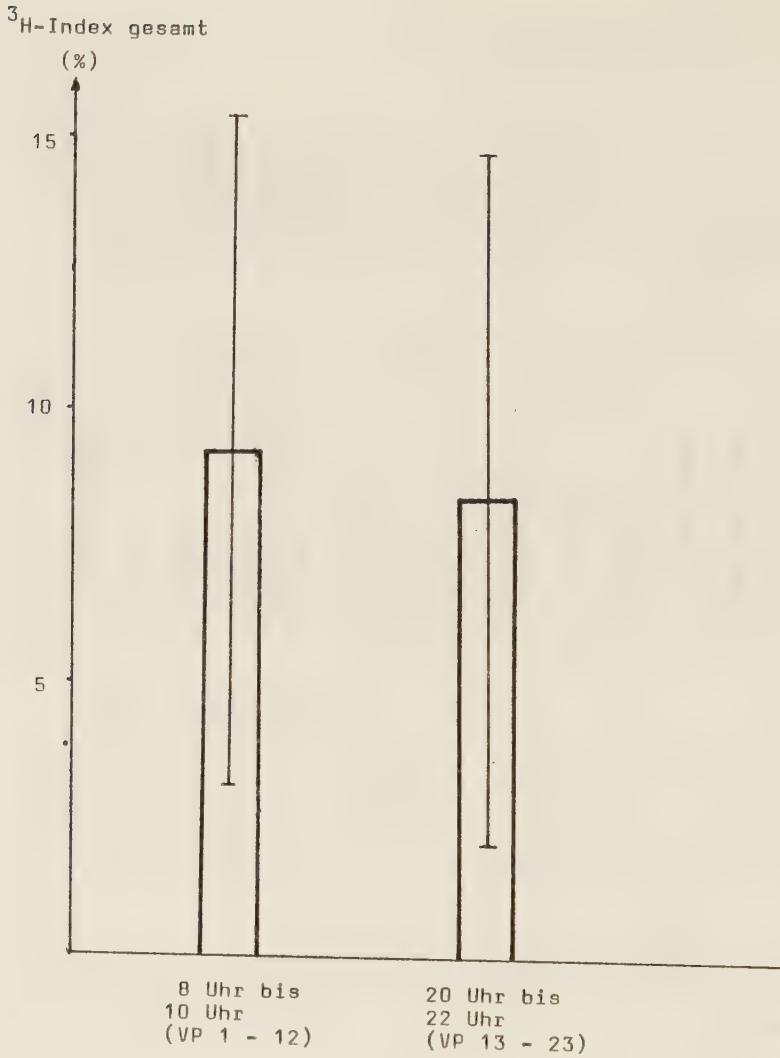


Abb. 15: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes gesamt in den Morgenstunden (8 Uhr und 10 Uhr) und in den Abenstunden (20 Uhr und 22 Uhr) als Mittelwerte mit Standardabweichung

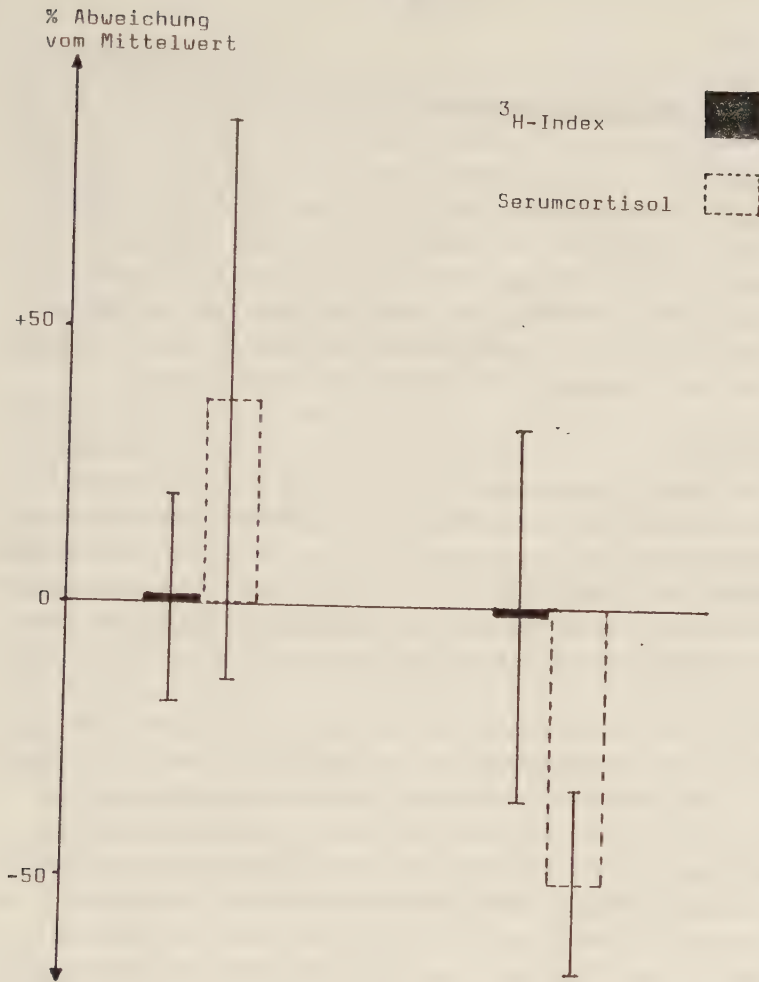


Abb. 16: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes in prozentualer Abweichung vom Mittelwert sowie des Serumcortisolspiegels in prozentualer Abweichung vom Mittelwert in den Morgenstunden (8 Uhr und 10 Uhr) und in den Abendstunden (20 Uhr und 22 Uhr) als Mittelwerte mit Standardabweichung

Zusammenstellung der Ergebnisse

^3H -Index

Nach unseren Untersuchungen beträgt der Gesamtmittelwert für den ^3H -Index an nichthefallener Haut von Psoriasispatienten 8,39 % mit einer Standardabweichung von 4.94 %. Dieser Mittelwert wurde aus insgesamt 179 Stanzbiopsien errechnet.

Die Mittelwerte des ^3H -Indexes aus jeweils einem Probenpaar zeigen bei allen Versuchspersonen über den gesamten Versuchszeitraum individuell unterschiedliche tageszeitliche Schwankungen (Abb. 6). Eine Kongruenz der Kurvenverläufe von allen Versuchspersonen jeweils innerhalb einer Serie ließ sich nicht feststellen. Dies gilt ebenso für die in prozentualer Abweichung vom Mittelwert für jede Versuchsperson gebildeten Werte (Abb. 7).

Nach Auftragen aller Mittelwerte aus jeweils einem Probenpaar für jede Versuchsperson, getrennt nach den einzelnen Serien I bis IV, zeigt sich, daß alle Werte für jeden Probanden um die Null-Linie relativ gleichmäßig nach oben (positiv) und unten (negativ) streuen (Abb. 8 bis 11). Lediglich der Gesamtmittelwert aller 6 bzw. 5 Versuchspersonen aus jeweils einer Serie zeigt über den tageszeitlichen Verlauf Schwankungen mit Maxima und Minima. Diese Maxima und Minima des Gesamtmittelwertes liegen jedoch innerhalb der Streubreiten der Einzelwerte. Danach ergeben sich für jede der 4 Serien folgende Maxima und Minima:

	Maximum (Uhrzeit)	Minimum (Uhrzeit)
Serie I	16	8
Serie II	10	22
Serie III	24	4
Serie IV	10	2

Nach Auftragen der Werte aller Versuchspersonen über den gesamten Versuchszeitraum von 26 Stunden hinweg zeigte sich, daß hier ebenfalls die Werte aller Versuchspersonen relativ gleichmäßig nach oben und unten um die Null-Linie streuen (Abb. 12). Der Gesamtmittelwert zeigt hier ebenfalls tageszeitliche Schwankungen mit Maxima und Minima über den gesamten Versuchszeitraum:

Maxima: 10, 14, 16, 24 und 10 Uhr

Minima: 22 Uhr und 2 Uhr

Die Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima der Werte für den ^3H -Index für alle 23 Versuchspersonen (Abb. 13) zeigt eine gleichmäßige Verteilung von Maxima und Minima über den gesamten Versuchszeitraum. Lediglich um 4 Uhr und 6 Uhr tritt bei keiner Versuchsperson ein Maximalwert auf. Um 4 Uhr haben drei und um 2 Uhr ein einziger Proband ihren Minimalwert während des Versuchszeitraumes. Während der übrigen Entnahmezeiten sind Maxima und Minima gleichmäßig, etwa im Verhältnis 1 : 1, verteilt.

Verteilung von Maxima und Minima jeder einzelnen Versuchsperson über den gesamten Versuchszeitraum von 26 Stunden:

Maxima: 16 Uhr, 24 Uhr

Minima: 8, 22, 2 und 4 Uhr.

Der Mittelwert aller Versuchspersonen für den ^3H -Index in den Abendstunden (20 - 22 Uhr) ist gegenüber dem Mittelwert aller Versuchspersonen in den Morgenstunden (8 - 10 Uhr) nur geringfügig niedriger (vgl. Abb. 15):

20 - 22 Uhr: ^3H -Index 8,35 % $\pm$ 6,30 %

8 - 10 Uhr: ^3H -Index 9,19 % $\pm$ 6,09 %

Auch nach Darstellung der Werte für den ^3H -Index in prozentualer Abweichung vom Mittelwert ergibt sich für den Gesamtmittelwert in den Abendstunden nur ein geringfügig niedrigerer Wert, als in den Morgenstunden:

20 - 22 Uhr: ^3H -Index -1,13 %

8 - 10 Uhr: ^3H -Index +0,78 %.

Serumcortisol

Die Abb. 7 zeigt für jede Versuchsperson tageszeitliche Schwankungen des Serumcortisolspiegels, die innerhalb der Serien bei allen Versuchspersonen nahezu kongruent verlaufen. Dies wird besonders deutlich aus Abb. 12, bei der die Werte für alle Versuchspersonen über den gesamten Versuchszeitraum aufgetragen sind. Danach erfolgt in den Abend- und Nachtstunden eine kontinuierliche Abnahme der Werte (von 18 Uhr bis etwa 24 Uhr) und ein sprunghafter Anstieg in den frühen Morgenstunden (etwa ab 4 Uhr).

Dies bestätigt auch die Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima der Serumcortisolwerte aller 23 Versuchspersonen (Abb. 14).

Zu den Entnahmezeiten 8, 10, 12, 4, 6 und 10 Uhr, also während der frühen Morgenstunden bis etwa zum Mittag, zeigen fast alle Versuchspersonen ihren Maximalwert für Serumcortisol und in den Abend- und Nachtstunden ab etwa 20 Uhr bis früh 2 Uhr treten ausschließlich Minima auf.

Bildet man aus den Serumcortisolwerten für die Entnahmezeiten 8 - 10 Uhr und 20 - 22 Uhr jeweils den Gesamtmittelwert, so zeigt sich auch hier ganz eindrucksvoll, daß die Werte in den Morgenstunden beim Serumcortisol erheblich höher sind, als die entsprechenden Werte in den Abendstunden.

Durchschnittlicher Wert für Serumcortisol:

8 - 10 Uhr: 236,80 ng/ml $\pm$ 156,04 ng/ml

20 - 22 Uhr: 78,63 ng/ml $\pm$ 43,38 ng/ml.

Korrelation zwischen ^3H -Index und Serumcortisol

Bezüglich der Korrelation der Werte für den ^3H -Index und für Serumcortisol lassen sich von Versuchsbeginn 8 Uhr bis etwa 20 Uhr keine auffälligen Verläufe feststellen (Abb. 12). Den Minimalwerten für Serumcortisol um 22 Uhr und 24 Uhr und den Maximalwerten um 4 Uhr, 6 Uhr und 8 Uhr stehen für den ^3H -Index ein Maximum um 24 Uhr und Minima um 2 Uhr und 4 Uhr gegenüber. Hieraus könnte man folgern, daß sich in den Abend- und Nachtstunden eine gewisse direkte negative Korrelation einstellt. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Schwankungen des ^3H -Indexes nicht so ausgeprägt sind wie beim Serumcortisol und daß die Maxima und Minima des Gesamtmittelwertes für den ^3H -Index innerhalb der Streubreiten der Einzelwerte liegen.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß für den ^3H -Index für jede Versuchsperson individuelle Schwankungen festgestellt werden konnten mit unterschiedlicher Lage von Maxima und Minima. Nach Zusammenfassung der Werte aller Versuchspersonen für den ^3H -Index ergeben sich tageszeitliche Schwankungen mit Maxima und Minima bei großen Streubreiten der Einzelwerte, weshalb eine Korrelation zu den tageszeitlichen rhythmischen Schwankungen des Serumcortisolspiegels nicht nachgewiesen werden konnte.

D. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

- a) zur Höhe des ^3H -Indexes klinisch gesunder Haut von Psoriasis-Patienten, ferner
- b) zur Frage, ob tageszeitliche Schwankungen des epidermalen ^3H -Indexes festgestellt werden konnten, und
- c) sofern dies bejaht werden konnte, besteht eine Korrelation zu den tageszeitlichen Schwankungen des Serumcortisolspiegels dieser Patienten.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß sich die Höhe des durchschnittlichen ^3H -Indexes aller 23 Versuchspersonen mit den Ergebnissen verschiedener Autoren deckt (vgl. Tab. 2). So konnten wir aus insgesamt 179 Stanzbiopsien bei unseren 23 Probanden für die nichtbefallene Haut von Psoriatikern einen durchschnittlichen ^3H -Index von 8,39 % mit einer Standardabweichung von 4,94 % ermitteln.

Nach PULLMANN (42) beträgt der durchschnittliche ^3H -Index für die nichtbefallene Haut von Psoriatikern 6,1 % $\pm$ 0,3 %, nach KAIDBEY et al (35) 4,6 % und nach GALOSI et al. (21) 5,8 % $\pm$ 2,5 %. Lediglich HELL et al. (31) ermittelten für die nichtbefallene Haut von Psoriatikern einen niedrigeren Durchschnittswert von 2,6 % (vgl. Tab. 2).

In Übereinstimmung mit GALOSI et al. (21), GELFANT et al. (23, 24) und PULLMANN et al. (41, 42), die jeweils auch Untersuchungen über die Höhe des ^3H -Indexes bei klinisch gesunder Haut und für psoriatische Plaques durchgeführt haben, liegt im Vergleich mit diesen Untersuchungen auch nach unseren Ergebnissen der durchschnittliche ^3H -Index für die nichtbefallene Haut von Psoriatikern zwischen den Werten für die Haut von

gesunden Probanden (vgl. Tab. 1) und zwischen den Werten, die für die vollentwickelte psoriatische Plaque ermittelt wurden (vgl. Tab. 3).

Zur Frage der tageszeitlichen Schwankungen des epidermalen ^3H -Indexes zeigen unsere Ergebnisse, daß jede Versuchsperson innerhalb des jeweiligen Untersuchungszeitraumes von 12 Stunden in der Höhe des ^3H -Indexes individuelle Schwankungen aufweist (vgl. Abb. 6). Trotz dieser jeweils ausgeprägten tageszeitlichen Schwankungen war dagegen eine eigentliche Rhythmik sowohl im Einzelfall als auch im Gesamtkollektiv nicht nachweisbar.

Nach unseren Untersuchungen ergaben sich für den epidermalen ^3H -Index vorwiegend Maxima vormittags gegen 10 Uhr sowie in den Nachmittagsstunden 14 Uhr und 16 Uhr und um Mitternacht gegen 24 Uhr (vgl. Abb. 12). Demgegenüber stehen die Minima für den epidermalen ^3H -Index, die vorwiegend in den frühen Morgenstunden gegen 2 Uhr, 4 Uhr, 6 Uhr und 8 Uhr festgestellt werden konnten.

Auch ROWE et al. (47) konnten - allerdings aufgrund des Mitoseindex - bei der nichtbefallenen Haut von Psoriatikern ein Maximum um 15 Uhr und ein Minimum um 9 Uhr feststellen, wobei diese allerdings lediglich diese beiden Untersuchungszeitpunkte 9 Uhr und 15 Uhr wählten.

Auch KAHN et al. (34) konnten für den ^3H -Index, allerdings an gesunder Epidermis, ein Maximum um Mitternacht (0 Uhr) nachweisen. Ebenso fand SCHEVING (52) beim Mitoseindex, ebenfalls an gesunder Epidermis, Maxima zwischen 0 Uhr und 3 Uhr.

Mit den übrigen vorliegenden Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen sowohl des Mitoseindex als auch des ^3H -Indexes ergaben sich keine Übereinstimmungen (vgl. Tab. 5).

Für Serumcortisol konnten deutliche tageszeitliche Schwankungen mit Maximalwerten in den frühen Morgenstunden (4 Uhr, 8 Uhr und 10 Uhr) und Minimalwerte in den Abend- und Nachtstunden (20 Uhr,

22 Uhr und 24 Uhr) nachgewiesen werden (vgl. Abb. 12). Dies läßt sich auch aus der Darstellung der Werte für Maxima und Minima (Abb. 14) deutlich ersehen. Danach treten Maximalwerte besonders in den frühen Morgenstunden und Minima in den Abend- bzw. Nachtstunden auf. Eine von gesunden Probanden (Lit. bei 49) abweichende Tagesrhythmik der Serumcortisol schwankungen lag bei den untersuchten Psoriasispatienten nicht vor.

Korrelation ^3H -Index - Serumcortisol

Während sich beim Serumcortisol eine circadiane Schwankung mit Maxima in den frühen Morgenstunden und Minima in den Abend- und Nachtstunden zeigen läßt, konnten für den ^3H -Index keine einheitlichen tageszeitlichen Schwankungen nachgewiesen werden. Es konnte lediglich gezeigt werden, daß jede einzelne Versuchsperson über den Untersuchungszeitraum in ihren Werten für den epidermalen ^3H -Index individuelle Schwankungen mit unterschiedlicher Lage von Maxima und Minima aufweist.

Diese Schwankungen zeigen innerhalb einer Versuchsserie jedoch keine kongruenten Verläufe. Insbesondere sind die Schwankungen des epidermalen ^3H -Indexes nicht so ausgeprägt wie die des Serumcortisols, weshalb auch die Lage der Maxima und Minima des Gesamtmittelwertes aller 23 Versuchspersonen innerhalb der Streubreiten der jeweiligen Einzelwerte zu liegen kommen und somit nicht als echte Maximal- bzw. Minimalschwankungen angesehen werden können.

Eine Korrelation zu den Schwankungen der Werte für Serumcortisol konnte somit nicht gezeigt werden.

Eine zeitverschobene negative Korrelation des Serumcortisols und der epidermalen Proliferation (^3H -Index) um 6 Stunden, wie sie beim Gesunden statistisch nachgewiesen werden konnte (49), ergaben unsere beschreibenden Auswertungen nicht.

Um die Aussagekraft der in dieser Arbeit aufgezeigten Einzelwerte richtig einschätzen zu können, muß noch auf die Schwierigkeiten eingegangen werden, die damit verbunden sind, an der menschlichen Epidermis tageszeitliche Schwankungen im Proliferationsverhalten erkennbar zu machen und nachzuweisen.

Tierexperimentell ist bereits nachgewiesen, daß das Hautwachstum einem circadianen Rhythmus unterliegt (49). Es ist deshalb zu vermuten, daß auch das Hautwachstum des Menschen einer bestimmten Tagesrhythmik unterliegt.

Untersuchungen zur Frage circadianer epidermaler Proliferationsschwankungen beim Menschen sind bisher nur vereinzelt durchgeführt worden. Die wenigen, zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse lassen noch keine allgemein gültigen Schlußfolgerungen zu.

Die Schwierigkeiten bestehen einmal darin, daß man nicht jede Versuchsperson den genau gleichen Versuchsbedingungen unterziehen kann und daß das Organ Haut einer großen Zahl exogener als auch endogener Einflüsse ausgesetzt ist, die mit großer Wahrscheinlichkeit ihr Wachstumsverhalten beeinflussen. Der individuelle Tagesablauf eines jeden einzelnen Menschen ist verschieden. So sind die Schlaf/Wachperioden bei den einzelnen Individuen unterschiedlich. Hinzu kommt die Streß-situation durch die Bedingungen während der Biopsieentnahmen, besonders während der Nachtzeiten, wo die Probanden zum größten Teil aus dem Schlaf geweckt werden mußten. Dadurch ist es durchaus möglich, daß bereits der nächstfolgende Wert (nach 4 Stunden) oder die folgenden Werte beeinflusst worden sind. Diese individuelle interne Desynchronisation könnte man vielleicht umgehen, indem man in späteren Arbeiten eine andere Versuchsanordnung wählt und nur eine Stanzbiopsie von jeweils einem Probanden entnommen wird.

Weiterhin besteht auch grundsätzlich eine Beschränkung im Finden von geeigneten Versuchspersonen, die unsere Versuchsbedingungen erfüllen und außerdem bereit sind, die doch erheblichen Belastungen einer Gewebs- und Blutentnahme im vierstündigen Rhythmus auf sich zu nehmen. Deswegen konnten die Abstände der Untersuchungszeitpunkte nicht enger gewählt werden und auch der Untersuchungszeitraum nicht weiter ausgedehnt werden. Um aber doch einen Zeitraum von 26 Stunden abdecken zu können, und um Ergebnisse in einem 2-stündigen Turnus zu erhalten, mußte eine sogenannte Transversalstudie durchgeführt werden, die uns zwar viele Einzelwerte lieferte, aber doch jeweils immer von einem anderen Probanden.

Ferner benötigten wir, um diese Ergebnisse zu erhalten, einen Zeitraum vom Frühjahr 1979 bis März 1981. Es sind deshalb bei unseren Ergebnissen jahreszeitliche Schwankungen, individueller Tag-/Nacht- Rhythmus sowie Hell-/Dunkel- Phasen oder eine negative Einstellung zum Versuch zu beachten und können das Proliferationsverhalten der Epidermis stark beeinflussen. Gerade das Wecken in der Nacht zur Gewebs- und Blutentnahme geht wahrscheinlich bei den meisten Probanden mit einer Adrenalin ausschüttung einher, die sich wiederum in einer Mitosehemmung der Epidermis auswirken könnte (51).

Hinzu kommen die Bedingungen der Markierung der Zellen bei dem in dieser Arbeit vorgenommenen Verfahren der in-vitro Methode.

Durch all diese Faktoren ist es möglich, daß vorhandene tageszeitliche Schwankungen im epidermalen Wachstumsverhalten so verzerrt werden, daß sie als solche nicht mehr zu erkennen sind.

Demgegenüber ist es bedeutend einfacher, beim Tier eine Wachstumsrhythmik nachzuweisen, wie dies bereits geschehen ist (Lit. bei 49). Hierbei wurde insbesondere das in-vivo Verfahren angewendet, wobei die Gewebsentnahmen immer erst nach Tötung der Tiere erfolgten.

Da das in-vivo Verfahren beim Menschen eine große Strahlenbelastung mit sich bringt, wurde in dieser Arbeit davon abgesehen, die in-vivo Markierung durchzuführen, sondern es wurde die in-vitro Methode angewandt, die keinerlei Strahlenbelastung für den Probanden mit sich bringt.

Trotz all dieser geschilderten Schwierigkeiten wurde dennoch versucht, tageszeitliche Schwankungen im Wachstumsverhalten der Epidermiszellen klinisch gesunder Haut von Psoriasis-Patienten nachzuweisen, um einmal eine rhythmusadaptierte Therapie von Hautkrankheiten zu ermöglichen. Mit der vorliegenden Arbeit wollten wir hierzu einen Beitrag leisten. Es werden jedoch in Zukunft auf diesem Gebiet noch weitere Arbeiten notwendig sein mit anderen Versuchsanordnungen, wie sie zum Beispiel vorstehend beschrieben wurden (lediglich eine einzige Stanzbiopsie von jeweils nur einem Probanden), um einmal diesem Ziel näher zu kommen.

E. Zusammenfassung

Untersuchungen zur Frage circadianer epidermaler Proliferationsschwankungen beim Menschen sind bisher nur vereinzelt durchgeführt worden. Die wenigen, zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse (vgl. Tab. 5) lassen noch keine allgemein gültigen Schlußfolgerungen zu und sind auch aufgrund der jeweils untersuchten Epidermis (gesunde Haut, nicht befallene und befallene Haut von Psoriasis-Patienten), der verwendeten Parameter (Mitosezahl, ³H-Index in-vivo oder in-vitro), der unterschiedlichen Lokalisation der Entnahmestellen beim Probanden sowie der Entnahmezeitpunkte untereinander nur bedingt vergleichbar.

Die vorliegenden Untersuchungen galten der Frage, ob auch an der nichtbefallenen Epidermis von Patienten mit Psoriasis, unter einheitlichen Versuchsbedingungen, circadiane Proliferationsschwankungen nachzuweisen sind und ob eine zeitliche Korrelation dieser tageszeitlichen Schwankungen zu den physiologischen Tagesschwankungen des Serumcortisolspiegels besteht.

In einer gemischten Longitudinal-/Transversalstudie wurden an 23 stationären, männlichen Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik mit Psoriasis vulgaris, Alter 20 bis 46 Jahre, durchschnittliches Alter 33 Jahre, in 4-stündigen Abständen an klinisch unveränderter Epidermis gleicher Lokalisation (Oberarminnenseite li.) aus jeweils 2 Hautstanzbiopsien (Durchmesser 3 mm) der durchschnittliche prozentuale ³H-Index bestimmt. Gleichzeitig wurde aus der Kubitalvene Blut entnommen zur Bestimmung u. a. der Höhe des Serumcortisolspiegels. Durch Einteilung der Probanden in 4 Serien, die zueinander um 2 Stunden zeitversetzt wurden, konnte mit den insgesamt 23 Probanden ein Zeitraum von 26 Stunden abgedeckt werden.

Der Serumcortisolspiegel wies typische circadiane Schwankungen während des gesamten Versuchszeitraumes mit Minima in den

Nachtstunden zwischen 20 Uhr und 2 Uhr (Hauptminimum 22 Uhr und 24 Uhr) und Maxima in den Morgenstunden zwischen 4 Uhr und 10 Uhr (Hauptmaximum 4 Uhr) auf, wie sie auch von anderen Autoren gefunden werden konnten. Ganz charakteristisch ist hierbei der steile Anstieg der Serumcortisolwerte aller jeweiligen Versuchspersonen zwischen 2 Uhr und 4 Uhr.

Ein wichtiges Ergebnis unserer Untersuchungen war, daß wir beim ^3H -Index feststellen konnten, daß die epidermale Proliferation im Tagesablauf nicht konstant auf gleichem Niveau bleibt, sondern daß hier jede Versuchsperson deutliche individuelle und zeitliche Schwankungen mit Maxima und Minima aufweist.

Der aus den Werten aller Probanden gebildete Gesamtmittelwert zeigt ebenfalls circadiane Schwankungen mit Maxima in den Morgenstunden (10 Uhr), in den Nachmittagsstunden (14 bis 16 Uhr) und gegen Mitternacht (24 Uhr), sowie Minima in den frühen Morgenstunden (2 Uhr bis 6 Uhr), jedoch ist die Streubreite der Einzelwerte so groß, daß diese Maxima und Minima des Gesamtmittelwertes innerhalb der Streubreite der Einzelwerte liegen.

Nach Zusammenfassung der Einzelwerte aller 23 Probanden konnte eine eigentliche Rhythmik des ^3H -Indexes nicht nachgewiesen werden, da die zum jeweiligen Zeitpunkt gewonnenen Einzelwerte eine zu große Streubreite aufwiesen.

Dies schließt jedoch nicht aus, daß die epidermale Proliferation, wie bei Labortieren bereits nachgewiesen, tatsächlich circadianen Schwankungen unterliegt. Die Schwierigkeiten bei den Untersuchungen über circadiane Schwankungen des Wachstumsverhaltens der Epidermis liegt darin, daß deren Steuerung einem komplexen Geschehen und Zusammenwirken zwischen verschiedenen Faktoren unterliegt. Eine Synchronisation der epidermalen Proliferation im Versuch zu erreichen, ist äußerst schwierig und bisher offensichtlich noch nicht gelungen. Dies beweisen auch die Untersuchungen anderer Autoren zur dieser Fragestellung.

Aufgrund vergleichender Untersuchungen (Tab. 1 - 3) konnte festgestellt werden, daß die Höhe des ermittelten durchschnittlichen ³H-Indexes je nach Autor voneinander mehr oder weniger abweicht. Dies gilt sowohl für die Untersuchungen an gesunder Haut als auch an psoriatischer Plaque und an der nichtbefallenen Haut von Psoriatikern.

Ebenso zeigen die von anderen Autoren vorliegenden Untersuchungen zur Frage der tageszeitlichen Schwankungen des Wachstumsverhaltens der Epidermis zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Einige Autoren konnten Maxima und Minima feststellen, deren Lage jedoch zu unterschiedlichen Zeitpunkten angegeben wird, andere Autoren wiederum konnten keine einheitlichen Maxima oder Minima bzw. statistisch signifikante Schwankungen feststellen (vgl. hierzu Tab. 5).

So werden in Zukunft sicherlich noch weitere Untersuchungen erforderlich sein, um einmal als Ziel dieser Forschungen eine rhythmusadaptierte Therapie von Hautkrankheiten zu ermöglichen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s
=====

- 1 Allegra, F., De Panfilis G.: An in vivo Method of Studying the Kinetics of Cell Proliferation in Normal Human Epidermis. *Acta dermato-venerologica*, 54, 87, 1974.
- 2 Bauer, F.W., De Grood, R.M.: Impuls-Cytophotometrie bei Psoriasis. *Br. J. Derm.* 93, 225-227, 1975.
- 3 Bergstresser, P.R., Taylor, J.R.: Epidermal "turnover-time", a new examination. *Br. J. Derm.* 96, 503, 1977.
- 4 Berson, S.A., Yellow, R.S.: General principles of radio-immunoassay. *Clin. Chem. Acta*, 22, 51-69, 1968.
- 5 Broders, A.C., Dublin, W.B.: Rhythmicity of mitosis in the epidermis of human beings. *Proc. Staff. Meet. Mayo-Clin.* 14, 423-425, 1939.
- 6 Brown, J.M., Oliver, R.: A new method of estimating the cell cycle in epithelial tissues of long generation time. *Cell Tiss. Kinet.* 1, 11, 1968.
- 7 Buddecke, E.: *Grundriß der Biochemie*. Walter de Gruyter Verlag, Berlin-New-York, 1977.
- 8 Bullough, W.S., Rytömaa, T.: Mitotic homeostasis *Nature* 205, No. 4971, 573, 1965.
- 9 Bullough, W.S., Laurence, E.B.: The role of the glucocorticoid hormones in the control of epidermal mitosis. *Cell Tiss. Kinet.* 1, 5-10, 1986.
- 10 Chopra, D.P., Flaxman, B.A.: Human Epidermal Cell Cycle in-vitro. *Br. J. Derm.* 87, 13, 1972.

- 11 Christophers, E., Schaumlöffel, E.: Zur DNS-Synthesezeit in der menschlichen Epidermis. Archiv für klinische und experimentelle Dermatologie, 228, 57-64, 1967.
- 12 Cooper, Z.K.: Mitotic Rhythm in Human Epidermis. J. invest. Derm. 2, 289-300, 1939.
- 13 Duffil, M., Wright, N., Schuster, S.: The Cell Proliferation Kinetics of Psoriasis Examined by three in-vivo Techniques. Br. J. Derm. 94, 355, 1976.
- 14 Eaglestein, W.H., Weinstein, G.D.: Prostaglandin and DNA-Synthesis in Human Skin: Possible Relationship to Ultra-violet Light Effects. J. invest. Derm. 64, 386, 1975.
- 15 Egdmann, W.: Histoautoradiographische in-vitro Untersuchungen an der menschlichen Epidermis zur Frage tageszeitlicher Variationen der DNS-Synthesedauer. Diss. Erlangen.
- 16 Epstein, W.L., Maibach, H.I.: Cell Renewal in Human Epidermis. Arch. Derm. 92, 462, 1965.
- 17 Fisher, L.B.: The diurnal mitotic rhythm in the human epidermis. Br. J. Derm. 80, 75-80, 1968.
- 18 Fisher, L.B., Wells, G.C.: The mitotic rate and duration in lesions of Psoriasis and Ichthyosis. Br. J. Derm. 80, 235, 1968.
- 19 Fisher, L.B., Maibach, H.: The effect of corticosteroids on human epidermal mitotic activity. Arch. Derm. (Chicago) 103, 39-44, 1971.
- 20 Fry, L., Mc Minn, R.M.H.: Observations on mitosis in psoriatic epidermis. Br. J. Derm. 82, 19-22, 1970.

- 21 Galosi, A., Pullmann, H., Steigleder, G.K.: Abnormal Epidermal Cell Proliferation on the Elbow in Psoriatic and Normal Skin. Arch. Derm. Res. 267, 105-107, 1980.
- 22 Gelfant, S.: The cell cycle in psoriasis: a reappraisal. Br. J. Derm. 95, 577, 1976.
- 23 Gelfant, S., Ozawa, A., Chalker, D.K., Smith, J.G.: Circadian Rhythms and Differences in Epidermal and in Dermal Cell Proliferation in Uninvolved and Involved Psoriatic Skin In Vivo. J. invest. Derm. 78, 58-62, 1982.
- 24 Gelfant, S.: "Of mice and men" the Cell Cycle in Human Epidermis In Vivo. J. invest. Derm. 78, 296-299, 1982.
- 25 Goodwin, P., Hamilton, S., Fry, L.: The cell cycle in Psoriasis. Br. J. Derm. 90, 517, 1974.
- 26 Goodwin, P., Fry, L.: Turnover time in Psoriasis. Proc. roy. Soc. Med. Volume 67, July 1974.
- 27 Goodwin, P., Fry, L.: The cell cycle time in psoriasis: the uninvolved epidermis. Clinical and Experimental Dermatology 2, 259, 1977.
- 28 Heenen, M., Galand, P.: Cell population kinetics in human epidermis: in vitro autoradiographic study by double-labeling method. J. invest. Derm. 56, 425, 1971.
- 29 Heenen, M., Achten, G., Galand, P.: Autoradiographic Analysis of Cell Kinetics in Human Normal Epidermis and Basal Cell Carcinoma. Cancer Research 33, 123-127, 1973.
- 30 Heenen, M., Lambert, J.C., Achten, G., Galand, P.: Kinetics of Cell Proliferation in Benign and Premalignant Tumors of the Human Epidermis. Journal of the National Cancer Institute, 54, 825-827, 1975.

- 31 Hell, E., Hodgson, C.: The uptake of ^3H -Thymidine by epidermal cells in normal and psoriatic subjects. Br. J. Derm. 78, 262-268, 1966.
- 32 Hell, E., Maibach, H.: A comparison of in vivo and in vitro methods of identifying human epidermal cells in DNA synthesis. Br. J. Derm. 86, 506, 1972.
- 33 Horstmann, E.: Anatomie der Haut und ihrer Anhangsorgane. In: Gottron, H.A. und Schönfeld, W.: Dermatologie und Venerologie, Bd. I/1, Thieme, Stuttgart, 43-129, 1961.
- 34 Kahn, G., Weinstein, G.D., Frost, P.: Kinetics of human epidermal cell proliferation: diurnal variation. J. invest. Derm. 50, 459, 1968.
- 35 Kaidbey, K.H., Kurban, A.K.: Mitotic behaviour of the buccal mucosa epithelium in psoriasis. Br. J. Derm. 85, 162, 1971.
- 36 Kariniemi, A.L.: Culture of Psoriatic and Uninvolved Human Skin in Diffusion Chambers in Mice. J. invest. Derm. 63, 388-391, 1974.
- 37 Lachapelle, J.M., Gillman, T.: Tritiated Thymidine Labelling of Normal Human Epidermis Cell Nuclei; a Comparison, in the same Subjects, of in vivo and in vitro Techniques. Br. J. Derm. 81, 603, 1969.
- 38 Lissner, J., Hug, O.: Radiologie - Kompendium für den 1. klinischen Studienabschnitt. Enke, Stuttgart, 1975.
- 39 Milstein, H.G., Cornell, R.C.: Diurnal mitotic studies of Psoriatic Epidermis. J. invest. Derm. 61, 180-182, 1973.
- 40 Pujol-Amat, P., Davi, E., Martin-Gomin, J., Monfort, R.: Diurnal Variation in cyclic AMP in plasma. Lancet, February, 26, p. 489, 1977.

- 41 Pullmann H., Lennartz, K.J., Steigleder, G.K.: In vitro examination of cell proliferation in normal and psoriatic epidermis, with special regard to diurnal variations. Arch. Derm. Forsch. 250, 177, 1974.
- 42 Pullmann, H.: Autoradiographische Untersuchungen der Zellproliferation bei Psoriasis vulgaris. Grosse scripta 3, Grosse, Berlin 1978.
- 43 Radaelli, A., Carandente, F., Tadini, G., Ronchi, M., Zoccoli, A., Caccialanza, P.: Circadian temporal structure in psoriasis. Chronobiologia 9, 203-209, 1982.
- 44 Rajewski, M.F.: Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: ³H-Thymidin-Einbau in vitro unter Standardbedingungen. Biophysik 3, 65, 1966.
- 45 Rajewski, M.F.: Proliferative parameters of mammalian cell system and their role in tumor growth and carcinogenesis. Z. Krebsforschung 78, 12-30, 1972.
- 46 Rowe, L., Dixon, W.J.: Clustering and control of mitotic activity in human epidermis. J. invest. Derm. 58, 16-23, 1972.
- 47 Rowe, L., Dixon, W.J., Forsythe, A.: Mitoses in normal and psoriatic epidermis. Br. J. Derm. 98, 293-299, 1978.
- 48 Rubin, N.H., Scheving, E.L.: Circadian rhythm; Letter to the editor. J. invest. Derm. 80, 79-80, 1983.
- 49 Schell, H.: Biorhythmik und Epidermisproliferation. Grosse scripta 4, Grosse, Berlin 1978.
- 50 Schell, H., Schwarz, W., Hornstein, O.P., Bernlochner, W., Weghorn, C.: Evidence of Diurnal Variation of Human Epidermal Cell Proliferation. Arch. Dermatol. Res. 271, 41-47, 1981. und 49-53, 1981.

- 51 Schell, H.: Zur Zellkinetik der Epidermis aus bio-rhythmischer Sicht. Zentralblatt Haut- und Geschlechtskrankheiten, 141. Band, Heft 3, Seite 149-163.
- 52 Scheving, L.E.: Mitotic activity in the human epidermis. Anat. Rec. 135, 7-14, 1959.
- 53 Schmid, G.H., Hornstein, O.P.: Autoradiographische in-vitro Untersuchungen über den Einfluß der Inkubationsdauer auf die DNS-Synthese psoriatischer Epidermiszellen von Stanzbiopsien in Glutamin-freiem Nährmedium. Virchows Archiv, Abt. B, Zellpathologie 15, 165, 1974.
- 54 Schultze, B., Dehlert, W.: Autoradiographic investigations of incorporation of ^3H -Thymidine into cells of the rat and mouse. Science 131, 737, 1960.
- 55 Shahrads, P., Marks, R.: Hair Follicle Kinetics in Psoriasis. Br. J. Derm. 94, 7, 1976.
- 56 Skelley, D.S., Brown, L.P., Besch, P.K.: Radioimmunoassay. Clin. Chem. 19, 146-186, 1973.
- 57 Stüttgen, G.: Die normale und pathologische Physiologie der Haut. Fischer, Stuttgart, 1965.
- 58 Voorhees, J.J., Marcelo, C.L., Duell, E.A.: Cyclic AMP, cyclic GMP, and glucocorticoids as potential metabolic regulators of epidermal proliferation and differentiation. J. invest. Derm. 65, 129-190, 1975.
- 59 Weinstein, G.D., van Scott, E.J.: Autoradiographic analysis of turnover times of normal and psoriatic epidermis. J. invest. Derm. 45, 257, 1965.

- 60 Weinstein, G.D., Frost, P.:
Kinetics of Epidermal Cell Proliferation in Psoriasis.
Clinical Research 15, 256, 1967.
- 61 Weinstein, G.D., Frost, P.: Abnormal cell proliferation
in psoriasis. J. invest. Derm. 50, 254-258, 1968.
- 62 Weinstein, G.D., Frost, P.: Cell proliferation kinetics
in benign and malignant skin diseases in humans. National
Cancer Institute Monograph, 30, 225, 1969.
- 63 Weinstein, G.D., Velasco, J., Frost, P.:
In: Psoriasis (Ed. E.M. Farber, A.J. Cox), S. 393,
1971.
- 64 Weinstein, G.D., Frost, P.: Methotrexate for psoriasis.
Arch. Dermatol. 103, 33, 1971.
- 65 Weinstein, G.D., Goldfaden, G., Frost, P.: The effect
of methotrexate on DNA synthesis in psoriasis. Arch.
Dermatol. 104, 236, 1971.
- 66 Weinstein, G.D.:
Biochemical and Pathophysiological Rationale for
Amethopterin in Psoriasis.
Annals of the New-York Akademy of Science. 186, 452-466,
1971.
- 67 Weinstein, G.D.:
National Program for Dermatology, American Academy of
Dermatology, Teil I (an autotutorial program), 1971
- 68 Weinstein, G.D., Frost, P.: Replacement kinetics. In:
Dermatology in general medicine. Ed. Fitzpatrick et
al., Mc Graw-Hill Book Comp., New-York, pp. 78-86, 1971.

- 69 Weinstein, G.D., Mc Cullough, J.L.: Cytokinetics in diseases of epidermal hyperplasia. Annual Rev. of Med., 24, 345-352, 1973.
- 70 Weinstein, G.D.;
National Program for Dermatology, American Academy of Dermatology, Teil II (an autotutorial program). 1973.
- 71 Zum Winkel, K.: Nuklearmedizin. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1975.

A n h a n g

In den folgenden Tabellen 1 bis 10 sind alle bei den einzelnen Versuchen ermittelten und errechneten Werte, nach den Serien I bis IV geordnet, zusammengestellt.

Legende

VNr.	Versuchsnummer
VP	Versuchsperson
EZ	Entnahmezeitpunkt
BZ	Gesamtzahl der ausgezählten Basalzellen
mBZ	Gesamtzahl markierter Basalzellkerne
mSBZ	Gesamtzahl markierter Suprabasalzellkerne
mZ	Gesamtzahl markierter Basalzellkerne + Gesamtzahl markierter Suprabasalzellkerne
LI	^3H -Index gesamt (%)
L $\bar{\text{I}}$	aus 2 Einzelproben der gleichen Versuchsperson für einen Entnahmezeitpunkt bestimmter ^3H -Index (%)
Δ (%)	prozentuale Abweichung zwischen 2 Einzelproben der gleichen Versuchsperson für einen Entnahmezeitpunkt
MW	Mittelwert

S e r i e I

VNr.	VP	EZ	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	$\Delta \%$	$\bar{L}$	mSBZ/ mBZ
I	1	8.00	2117	144	184	328	15,49	3,74	15,20	1,28
			2227	163	169	332	14,91			1,04
		12.00	2155	171	176	347	16,10	4,53	15,74	1,03
			2069	168	150	318	15,37			0,89
		16.00	2007	162	136	298	14,85	6,94	14,34	0,84
			2149	154	143	297	13,82			0,93
		20.00	2194	114	136	250	11,39	6,23	11,04	1,19
			2275	120	123	243	10,68			1,03
II	2	8.00	2759	227	273	500	18,12	17,99	16,49	1,20
			2295	165	176	341	14,86			1,07
		12.00	2142	109	165	274	12,79	5,19	13,14	1,51
			2164	122	170	292	13,49			1,39
		16.00	1991	90	156	246	12,36	27,25	14,68	1,73
			1936	133	196	329	16,99			1,47
		20.00	2140	111	171	282	13,18	25,24	15,41	1,54
			1929	112	228	340	17,63			2,04
III	3	8.00	2036	43	51	94	4,62	38,56	6,07	1,19
			2181	77	87	164	7,52			1,13
		12.00	2456	59	65	124	5,05	29,37	6,10	1,10
			2210	60	98	158	7,15			1,63
		16.00	1955	70	86	156	7,98	18,67	7,24	1,23
			2311	75	75	150	6,49			1,00
		20.00	2140	63	74	137	6,40	6,56	6,19	1,17
			2443	74	72	146	5,98			0,97
IV	4	8.00	2200	68	77	145	6,59	19,14	7,37	1,13
			2259	112	72	184	8,15			0,64
		12.00	2698	110	97	207	7,67	-	7,67	0,88
			-	-	-	-	-			-
		16.00	1927	65	57	122	6,33	-	6,33	0,88
			-	-	-	-	-			-
		20.00	1712	67	84	151	8,82	-	8,82	1,25
			-	-	-	-	-			-
VI	5	8.00	2920	69	83	152	5,21	22,26	4,63	1,20
			2421	39	59	98	4,05			1,51
		12.00	3033	117	125	242	7,98	43,61	6,24	1,07
			2733	69	54	123	4,50			0,78
		16.00	2847	124	100	224	7,88	4,26	8,05	0,81
			2833	112	121	233	8,22			1,08
		20.00	2709	104	78	182	6,72	7,18	6,98	0,75
			2693	120	75	195	7,24			0,63
X	6	8.00	2631	56	19	75	2,85	11,49	3,04	0,34
			2389	53	24	77	3,22			0,45
		12.00	2473	55	31	86	3,48	13,86	3,76	0,56
			2229	47	43	90	4,04			0,91
		16.00	2375	65	29	94	3,96	20,16	4,46	0,45
			2115	65	40	105	4,96			0,62
		20.00	2413	72	47	119	4,93	40,97	3,92	0,65
			1857	37	17	54	2,91			0,46

Tab. 1: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen in Serie I

S e r i e I I

VNr.	VP	EZ	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	$\Delta \%$	L $\bar{I}$	mSBZ/ mBZ
20	7	10.00	2003	219	201	420	20,97	26,23	18,22	0,92
			1732	134	134	268	15,47			1,00
		14.00	2168	163	196	359	16,56	22,40	18,95	1,20
			2001	188	239	427	21,34			0,74
		18.00	1980	153	175	328	16,57	12,13	15,57	1,14
			2246	108	219	327	14,56			2,03
21	8	22.00	2039	34	65	99	4,86	34,36	4,03	1,91
			2039	21	44	65	3,19			2,10
		10.00	2099	43	38	81	3,86	-	3,86	0,88
			-	-	-	-	-			-
		14.00	2158	45	38	83	3,85	37,92	3,12	0,84
			2094	35	15	50	2,39			0,43
22	9	18.00	1904	35	14	49	2,57	28,81	3,09	0,40
			1940	30	40	70	3,61			1,33
		22.00	1984	45	53	98	4,94	3,70	5,04	1,18
			1911	84	14	98	5,13			0,17
		10.00	2157	81	52	133	6,17	10,70	5,84	0,64
			2031	69	43	112	5,51			0,62
25	10	14.00	2014	54	26	80	3,97	34,05	5,00	0,48
			2043	49	74	123	6,02			1,51
		18.00	2068	85	57	142	6,87	1,29	6,92	0,67
			2126	97	51	148	6,96			0,53
		22.00	2036	55	43	98	4,81	8,56	5,04	0,78
			2110	77	34	111	5,26			0,44
28	11	10.00	2116	127	188	315	14,89	34,98	18,90	1,48
			2057	172	299	471	22,90			1,74
		14.00	2034	220	214	434	21,34	17,20	19,51	0,97
			2066	151	214	368	17,67			1,42
		18.00	2006	113	198	311	15,50	50,19	11,61	1,75
			2059	65	94	159	7,72			1,45
29	12	22.00	2016	71	98	169	8,38	43,57	11,62	1,38
			2087	147	163	310	14,85			1,11
		10.00	2098	52	107	159	7,58	35,62	6,23	2,06
			2028	33	66	99	4,88			2,00
		14.00	2001	40	91	131	6,55	16,64	6,01	2,28
			2105	57	58	115	5,46			1,02
29	12	18.00	2084	58	90	148	7,10	54,37	5,17	1,55
			2039	22	44	66	3,24			2,00
		22.00	2076	46	42	88	4,24	39,15	3,41	0,91
			2018	26	26	52	2,58			1,00
		10.00	2068	46	51	97	4,69	13,65	4,37	1,11
			2222	48	42	90	4,05			0,88
29	12	14.00	1943	39	85	124	6,38	19,28	5,77	2,18
			2019	37	67	104	5,15			1,81
		18.00	2048	59	78	137	6,69	8,67	6,40	1,32
			2012	63	60	123	6,11			0,95
		22.00	2117	64	100	164	7,75	7,77	0,39	1,56
			2056	76	84	160	7,78			1,11

Tab. 2: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen in Serie II

S e r i e I I I

VNr.	VP	EZ	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	Δ %	L $\bar{I}$	mSBZ/ mBZ
31	13	20.00	2010	97	228	325	16,17	43,35	12,67	2,35
			1911	42	133	175	9,16			3,17
		24.00	1884	27	126	153	8,12	1,32	8,17	4,67
			1995	52	112	164	8,22			2,15
		4.00	1994	38	102	140	7,02	15,32	7,66	2,68
			2026	45	123	168	8,29			2,73
		8.00	1956	80	116	196	10,02	2,50	9,90	1,45
			2005	105	91	196	9,77			0,87
32	14	20.00	1890	63	150	213	11,27	32,88	14,03	2,38
			1876	147	168	315	16,79			1,14
		24.00	1866	90	210	300	16,08	7,16	16,70	2,33
			2061	98	259	357	17,32			2,64
		4.00	2010	93	162	255	12,69	14,03	11,80	1,74
			2145	57	177	234	10,91			3,11
		8.00	2093	158	204	362	17,30	7,98	16,61	1,29
			2009	145	175	320	15,92			1,21
33	15	20.00	1958	18	10	28	1,43	39,15	1,89	0,56
			1914	33	12	45	2,35			0,36
		24.00	1890	39	18	57	3,02	44,04	2,36	0,46
			2136	32	4	36	1,69			0,13
		4.00	1833	18	6	24	1,31	45,42	1,86	0,33
			2044	38	11	49	2,40			0,29
		8.00	1988	17	11	28	1,41	41,84	1,12	0,65
			1839	12	3	15	0,82			0,25
34	16	20.00	1887	36	69	105	5,56	4,47	5,69	1,92
			2112	33	90	123	5,82			2,73
		24.00	1806	60	67	127	7,03	21,62	6,27	1,12
			1905	48	57	105	5,51			1,19
		4.00	1821	48	27	75	4,21	20,62	4,66	0,56
			2079	66	42	108	5,19			0,64
		8.00	1879	46	87	133	7,08	3,41	7,21	1,89
			2115	80	75	155	7,33			0,94
35	17	20.00	2043	75	117	192	9,40	5,53	9,14	1,56
			1959	81	93	174	8,88			1,15
		24.00	2028	63	87	150	7,40	6,09	7,64	1,38
			2133	60	108	168	7,88			1,80
		4.00	1925	59	91	150	7,79	20,10	8,77	1,54
			1888	74	110	184	9,75			1,49
		8.00	1917	73	107	180	9,39	10,57	9,95	1,47
			2000	85	125	210	10,50			1,47
36	18	20.00	1862	32	45	77	4,09	15,84	4,48	1,41
			1872	35	56	91	4,86			1,60
		24.00	1907	60	147	207	10,85	29,12	9,27	2,45
			1911	54	93	147	7,69			1,72
		4.00	1929	51	84	135	7,00	6,67	7,25	1,65
			1881	75	66	141	7,50			0,88
		8.00	1887	77	73	150	7,95	9,50	7,93	0,95
			1935	81	72	153	7,91			0,89

Tab. 3: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen in Serie III

S e r i e I V

VNr.	VP	EZ	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	$\Delta \%$	L $\bar{I}$	mSBZ/ mBZ
37	19	22.00	1956	66	88	154	7,87	19,94	8,85	1,33
			1902	65	122	187	9,83			1,88
		2.00	1995	49	48	97	4,86	13,37	4,54	0,98
			2184	36	56	92	4,21			1,56
		6.00	2064	36	45	81	3,92	1,53	3,89	1,25
			2070	37	43	80	3,86			1,16
		10.00	2090	39	54	93	4,45	2,20	4,50	1,38
			2044	38	55	93	4,55			1,45
		22.00	1880	157	287	444	23,61	4,11	23,13	1,83
			1842	153	264	417	22,64			1,73
38	20	2.00	2099	120	181	301	14,34	7,42	14,92	1,51
			2130	150	180	330	15,49			1,20
		6.00	1924	109	245	354	18,40	-	18,40	2,25
			-	-	-	-	-			-
		10.00	1802	76	172	248	13,76	34,38	17,37	2,26
			1984	156	260	416	20,97			1,67
		22.00	1984	56	17	73	3,68	39,97	4,91	0,30
			2024	60	64	124	6,13			1,07
		2.00	1824	36	40	76	4,17	4,80	4,07	1,11
			1712	20	48	68	3,97			2,40
39	21	6.00	2060	64	56	120	5,83	37,74	4,73	0,88
			1708	46	16	62	3,63			0,35
		10.00	1983	108	72	180	9,08	0,98	9,13	0,67
			2094	96	96	192	9,17			1,00
		22.00	2045	40	10	50	2,44	36,48	2,00	0,25
			1938	12	18	30	1,55			1,50
		2.00	1835	95	60	155	8,45	0,59	8,43	0,63
			1965	100	65	165	8,40			0,65
		6.00	2012	92	28	120	5,96	5,20	5,81	0,30
			1929	60	49	109	5,65			0,82
40	22	10.00	2046	54	93	147	7,18	9,75	6,83	1,72
			1806	66	51	117	6,48			0,77
		22.00	1841	56	35	91	4,94	6,08	5,10	0,63
			1995	63	42	105	5,26			0,68
		2.00	2096	39	35	74	3,53	8,22	3,39	0,90
			1850	35	25	60	3,24			0,71
		6.00	1815	69	51	120	6,61	9,20	6,95	0,74
			1855	55	80	135	7,28			1,45
		10.00	2088	60	77	137	6,56	26,29	7,73	1,28
			1978	77	99	176	8,90			1,29
41	23	22.00	1841	56	35	91	4,94	6,08	5,10	0,63
			1995	63	42	105	5,26			0,68
		2.00	2096	39	35	74	3,53	8,22	3,39	0,90
			1850	35	25	60	3,24			0,71
		6.00	1815	69	51	120	6,61	9,20	6,95	0,74
			1855	55	80	135	7,28			1,45
		10.00	2088	60	77	137	6,56	26,29	7,73	1,28
			1978	77	99	176	8,90			1,29

Tab. 4: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen in Serie IV

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	83,39	91,27	85,07	70,79
VP 2	101,76	132,61	61,71	202,47
VP 3	316,24	349,14	255,48	239,22
VP 4	275,54	267,26	209,66	175,59
VP 5	138,78	95,01	60,42	27,44
VP 6	218,75	87,88	27,85	45,35
<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 7	138,95	43,60	105,56	35,84
VP 8	119,18	153,72	99,94	115,00
VP 9	513,75	282,44	128,01	55,02
VP 10	203,79	167,79	303,99	61,89
VP 11	173,59	191,34	394,74	123,23
VP 12	557,93	174,11	287,30	332,91
<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 13	91,79	153,68	261,83	208,12
VP 14	58,37	77,85	153,05	141,71
VP 15	54,98	40,32	295,47	199,59
VP 16	109,72	106,25	515,77	397,85
VP 17	126,26	74,25	218,66	138,13
VP 18	45,62	31,36	156,27	151,53
<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 19	12,81	14,56	53,40	53,50
VP 20	56,27	30,71	245,55	89,92
VP 21	39,70	112,43	264,79	282,35
VP 22	115,66	253,92	225,12	281,71
VP 23	153,70	292,36	348,65	214,66

Tab. 5: Serumcortisolwerte in ng/ml aller Versuchspersonen nach Serien geordnet

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	7,95	11,79	1,85	-21,59
VP 2	10,45	-11,99	-1,67	3,22
VP 3	-5,16	-4,69	13,13	-3,28
VP 4	-2,38	1,59	-16,16	16,82
VP 5	-28,55	-3,70	24,23	7,72
VP 6	-20,00	-1,05	17,37	3,16
MW	-6,28	-1,34	6,46	1,01
<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 7	28,40	33,54	9,73	-71,60
VP 8	2,12	-17,46	-18,25	33,33
VP 9	2,46	-12,28	21,40	-11,58
VP 10	22,65	26,61	-24,66	-24,59
VP 11	19,58	15,36	-0,77	-34,55
VP 12	-28,13	-5,10	5,26	27,80
MW	7,85	6,78	-1,22	-13,53
<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 13	31,98	-14,90	-20,21	3,13
VP 14	-5,14	12,91	-20,22	12,31
VP 15	4,42	30,39	2,76	-38,12
VP 16	-5,03	5,20	-21,81	20,97
VP 17	2,93	-13,96	-1,24	12,05
VP 18	-38,04	28,22	0,28	9,68
MW	-1,48	7,98	-10,07	3,34
<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 19	62,39	-16,70	-28,62	-17,43
VP 20	25,30	-19,18	-0,33	-5,90
VP 21	-14,01	-28,72	-17,16	59,89
VP 22	-65,34	46,10	0,69	18,37
VP 23	-11,92	-41,45	20,03	33,51
MW	-0,72	-11,99	-5,08	17,69

Tab. 6: ³H-Index gesamt in prozentualer Abweichung vom Mittelwert für alle Versuchspersonen nach Serien geordnet

Serie I

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
8.00 Uhr, 12.00 Uhr, 16.00 Uhr und 20.00 Uhr

VP 1	14,08
VP 2	14,93
VP 3	6,40
VP 4	7,55
VP 5	6,48
VP 6	3,80

Serie II

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
10.00 Uhr, 14.00 Uhr, 18.00 Uhr und 22.00 Uhr

VP 7	14,19
VP 8	3,78
VP 9	5,70
VP 10	15,41
VP 11	5,21
VP 12	6,08

Serie III

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
20.00 Uhr, 24.00 Uhr, 4.00 Uhr und 8.00 Uhr

VP 13	9,60
VP 14	14,79
VP 15	1,81
VP 16	5,96
VP 17	8,88
VP 18	7,23

Serie IV

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
22.00 Uhr, 2.00 Uhr, 6.00 Uhr und 10.00 Uhr

VP 19	5,45
VP 20	18,46
VP 21	5,71
VP 22	5,77
VP 23	5,79

Tab. 7: Individueller Mittelwert jeder Versuchsperson
für den ^3H -Index gesamt (%) (LI) aus den
4 Entnahmezeitpunkten, nach Serien geordnet.

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	0,92	10,46	2,95	-14,33
VP 2	-18,36	6,39	-50,49	62,44
VP 3	9,04	20,38	-11,91	-17,52
VP 4	18,76	15,19	-9,63	-24,32
VP 5	72,59	18,16	-24,86	-65,87
VP 6	130,36	-7,64	-70,67	-52,24
MW	35,55	10,49	-27,44	-18,64
<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 7	71,58	-46,15	30,35	-55,74
VP 8	-2,28	26,04	-18,06	-5,71
VP 9	109,86	15,36	-47,71	-77,53
VP 10	10,53	-8,99	64,88	-66,43
VP 11	-21,36	-13,31	78,83	-44,17
VP 12	65,04	-48,50	-15,02	-1,52
MW	38,90	-12,59	15,55	-41,85
<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 13	-48,68	-14,08	46,39	16,36
VP 14	-45,83	-27,75	42,04	31,52
VP 15	-62,75	-72,68	100,20	35,23
VP 16	-61,15	-62,38	82,64	40,88
VP 17	-9,38	-46,71	56,94	-0,86
VP 18	-52,58	-67,40	62,44	57,52
MW	-46,73	-48,50	65,11	30,11
<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10 Uhr
VP 19	-61,84	-56,63	59,07	59,37
VP 20	-46,72	-70,92	132,51	-14,86
VP 21	-77,29	-35,69	51,46	61,51
VP 22	-47,21	15,89	2,75	28,58
VP 23	-39,09	15,86	36,19	-14,93
MW	-54,43	-26,30	56,40	23,93

Tab. 8: Serumcortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert für alle Versuchspersonen nach Serien geordnet.

Serie I

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
8.00 Uhr, 12.00 Uhr, 16.00 Uhr und 20.00 Uhr

VP 1	82,63
VP 2	124,64
VP 3	290,02
VP 4	232,01
VP 5	80,41
VP 6	94,96

Serie II

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
10.00 Uhr, 14.00 Uhr, 18.00 Uhr und
22.00 Uhr

VP 7	80,99
VP 8	121,96
VP 9	244,81
VP 10	184,37
VP 11	220,73
VP 12	338,06

Serie III

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
20.00 Uhr, 24.00 Uhr, 4.00 Uhr und 8.00 Uhr

VP 13	178,86
VP 14	107,75
VP 15	147,59
VP 16	282,40
VP 17	139,33
VP 18	96,20

Serie IV

Mittelwert aller 4 Entnahmezeitpunkte
22.00 Uhr, 2.00 Uhr, 6.00 Uhr und 10.00 Uhr

VP 19	33,57
VP 20	105,61
VP 21	174,82
VP 22	219,10
VP 23	252,34

Tab. 9: Individueller Mittelwert jeder Versuchsperson
für Serumcortisol in ng/ml aus den 4 Entnahme-
zeitpunkten, nach Serien geordnet.

	8.00 - 12.00 Uhr	20.00 - 22.00 Uhr
Mittelwert ³ H-Index gesamt (%) (LI) der Versuchspersonen 1 - 12	9,19% ± 6,09%	8,35% ± 6,30%
Mittelwert ³ H-Index gesamt in prozentualer Abweichung vom Mittelwert (%)	0,78% ± 18,87%	-1,13% ± 34,17%
Mittelwert Serumcortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert	37,22% ± 50,81%	-50,23% ± 17,28%

Tab. 10: Zellkinetische und hormonanalytische Werte
zu den Abb. 15 und 16.

D a n k s a g u n g

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. O.P. Hornstein für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Untersuchung an der Dermatologischen Universitätsklinik.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich Herrn Prof. Dr. med. H. Schell für seine Förderung und stete Hilfsbereitschaft sowie seine wertvollen Anregungen bei der Durchführung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Dipl. Chem. Dr. W. Schwarz für die Bestimmung der Cortisolwerte, sowie Frau Dr. Dr. Guggenmoos-Holzmann vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Erlangen-Nürnberg für die Beratung hinsichtlich statistischer Fragen und Darstellung der Einzelergebnisse.

Gleichfalls danken möchte ich Frau G. Ritter für die Anfertigung der histoautoradiographischen Präparate.

Curriculum vitae

Name: H o c k , Robert Fred

Geboren: 22.07.1946 in Nürnberg

Eltern: Hock, Friedrich, kaufm. Ang. i. R.,
Hock, Gertrud, geb. Kuntz, verst. am 25.3.1967

Eheschließung: September 1970 mit Josephine Hock, geb. Winter

Vorbildung: 1952 - 1956 Volksschule in Nürnberg
1956 - 1962 Humanistisches Gymnasium in Nürnberg
1962 - 1965 Priv. Handelsschule Dr. Sabel in Nürnberg
1965 - 1968 Regierungs-Inspektoranzwärter bei der
Regierung von Mittelfranken in Ansbach
1968 - 1975 Beamter bei der Regierung von Mittelfranken
in Ansbach, dem Markt Oberstaußen i. Allgäu
und der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg, als Reg.Oberinspektor
aus dem Staatsdienst ausgeschieden auf eigenen
Antrag wegen Vorbereitung auf das Abitur
Ende September 1975
1972 - 1976 Besuch des Erzbischöflichen Abendgymnasiums
für Berufstätige in Bamberg,
Abitur am 25.6.1976

Studiengang: 13.9.1976 inskribiert für das Studium der Zahnheilkunde
an der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
4.8.1977 naturwissenschaftlicher Abschnitt der
zahnärztlichen Vorprüfung
4.4.1979 Zahnärztliche Vorprüfung (Physikum)
18.12.1981 Abschluß des Staatsexamens
30.12.1981 Bestallung als Zahnarzt

Berufsausübung: ab 1.1.1982 Assistenzzahnarzt in Burgebrach/Ofr.

